Einführung in das Studium

der

Bakteriologie

mit besonderer Berücksichtigung

der

mikroskopischen Technik.

Für Aerzte und Studirende

bearbeitet von

Dr. med. Carl Günther
in Berlin.

Zweite, vermehrte und verbesserte Auflage.

Mit 72 fast sämmtlich nach eigenen Präparaten vom Verfasser hergestellten Photogrammen.

LEIPZIG.
Verlag von Georg Thieme.
1891.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.



Vorwort zur ersten Auflage.

Mit der Herausgabe des nachfolgenden Buches verbindet der Verfasser die Absicht, dem Mediciner, und zwar dem Studirenden ebenso wie dem Arzte, eine kurzgefasste, das Wesentliche vollständig bringende Einführung in das praktische Studium der Bakterienwissenschaft zu geben; der Wissenschaft, mit welcher fast jeder einzelne Zweig der Medicin mehr oder weniger nahe Berührungspunkte besitzt, und deren Bedeutung für die Medicin von Tag zu Tag augenfälliger wird.

Die Erfahrung lehrt, wie viel Mühe dem Anfänger speciell der Gebrauch des Mikroskopes, und zwar gerade die elementare, manuelle Technik, macht. Dieser Punkt hat in dem Buche ganz besondere Berücksichtigung gefunden, und der Verfasser glaubt damit in der That einem bestehenden Bedürfnisse entsprochen zu haben.

Die dem Buche beigegebenen Photogramme dürften zum Verständnisse des Gegenstandes an vielen Stellen wesentlich beitragen und vielleicht auch Manchem bei der Beurtheilung und Deutung seiner eigenen Untersuchungsobjecte einen Anhalt gewähren. Die Photogramme sind aus einer grösseren Sammlung von Aufnahmen ausgewählt und zusammengestellt, die im Laufe der letzten Jahre entstanden sind.

Bei der Abfassung des Buches habe ich ausser den unter dem Texte citirten Originalarbeiten die Werke Robert Koch's und die bekannten Lehrbücher von de Bary, von Flügge, von Baumgarten, von C. Fraenkel, von Hueppe vielfach benutzt.

Berlin, im Juli 1890.

Der Verfasser.

Vorwort zur zweiten Auflage.

Bei der Bearbeitung der vorliegenden zweiten Auflage waren die leitenden Gesichtspunkte dieselben wie bei der Abfassung der ersten Auflage.

Der Verfasser hat es sich angelegen sein lassen, das Buch einer sorgfältigen Durchsicht zu unterziehen. Fast auf jeder Seite des Textes finden sich Abweichungen von der ursprünglichen Fassung, Ergänzungen, Verbesserungen. Einzelne Abschnitte sind auch mehr oder weniger umgearbeitet worden. Der Umfang des Textes hat sich so um nahezu zwei Druckbogen erweitert.

Eine wesentliche Verbesserung haben die dem Buche beigegebenen photographischen Tafeln erfahren. Von den 60 Aufnahmen der ersten Auflage sind 7 weggelassen und dafür 19 zugefügt worden, so dass der gegenwärtigen Auflage im Ganzen 72 Photogramme beigegeben werden. Dieselben hat der Verfasser nach eigenen Präparaten hergestellt — mit einer Ausnahme. Es ist dies Photogramm No. 72 auf Taf. XII; dasselbe ist nach einem Präparate des Herrn Prof. E. Marchiafava in Rom aufgenommen. Dem genannten Herrn sage ich für die freundliche Erlaubniss der Benutzung seines Präparates besten Dank.

Berlin, im März 1891.

Der Verfasser.

Inhalts-Uebersicht.

Einleitung.

Unter der Bezeichnung „Bakterien“ fasst man eine Gruppe kleinster einzelliger organischer Wesen zusammen, welche, ihrer grossen Mehrzahl nach, in physiologischer Beziehung den Pilzen nahe stehen und sich durch Theilung des Einzelindividuums in zwei Individuen, durch Spaltung, vermehren. Man spricht deshalb auch von Spaltpilzen, Schizomyceten, und gebraucht diese Ausdrücke synonym mit dem Ausdrucke Bakterien. Auch die Bezeichnungen Mikroorganismen, Mikrobien, sind, im engeren Sinne verstanden, für diese Gebilde vielfach in Gebrauch. Die ausserordentliche Verbreitung derselben in der Natur hat die Aufmerksamkeit der Forscher schon frühzeitig auf sie gelenkt. Der Erste, welcher die uns geläufigen Bakterienformen gesehen und abgebildet hat, war Leeuwenhoek in Delft (Holland) 1683. Der geniale Beobachter sah diese „Thierchen“ mit Hülfe stark vergrössernder einfacher Linsen, die er sich selbst geschliffen hatte, in seinem Zahnbelage und in anderen Flüssigkeiten. Seit jener Zeit und dann namentlich seit den dreissiger Jahren unseres Jahrhunderts, nachdem das Mikroskop gewaltige Verbesserungen erfahren hatte, hat man den kleinsten Lebewesen die Aufmerksamkeit zugewendet. [1])

Aber erst die letzten Jahrzehnte sind es gewesen, welche ein fruchtbringendes Studium dieser Gebilde in grösserer Ausdehnung ermöglicht haben; erst seit wenigen Jahren können wir von einer bakteriologischen „Wissenschaft“ sprechen. Um das recht zu verstehen, müssen wir uns den jetzigen und den früheren Zustand vergegenwärtigen. Jeder, nicht bloss der Arzt, sondern jeder Laie, spricht jetzt von Tuberkelbacillen, von Milzbrandbacillen. In diesen Worten liegt ohne Weiteres die Überzeugung, dass damit von einander verschiedene Bacillenarten gemeint seien, dass der

[1]) Bezüglich der Geschichte der Bakterienlehre verweise ich auf das ausgezeichnete Werk Fr. Loeffler's: Vorlesungen über die geschichtliche Entwickelung der Lehre von den Bakterien. I. Theil. Bis zum Jahre 1878. Leipzig 1887.

Tuberkelbacillus seine specifischen Eigenschaften habe, und dass diese von den specifischen Eigenschaften des Milzbrandbacillus verschieden seien; es liegt darin die Ueberzeugung, dass das Gebiet der kleinsten Organismen ebenso aus einzelnen, je durch charakteristische constante Merkmale gekennzeichneten Species zusammengesetzt ist, wie das in allen übrigen Abtheilungen der lebenden Natur der Fall ist. Die Erkenntniss dieser so einfach, so selbstverständlich erscheinenden Thatsache hat aber erst errungen werden müssen. Wenn man daran denkt. dass kaum drei Jahrzehnte uns von dem Zeitpunkte trennen, wo ernste wissenschaftliche Männer eine Entstehung der Bakterienvegetationen in unseren Gefässen durch Urzeugung, durch Generatio aequivoca, noch für möglich hielten, wo es erst bewiesen werden musste, dass ohne das Vorhandensein von entwickelungsfähigen Keimen Bakterienvegetationen nie auftreten, wenn wir dies bedenken, so wird es uns nicht Wunder nehmen, dass noch vor wenigen Jahren von mehreren berühmten Seiten[1]) auf Grund experimenteller Untersuchungen die Existenz verschiedener Species bei den Bakterien direkt in Abrede gestellt resp. die Abgrenzung derselben in einzelne Species nicht für zwingend erachtet wurde. Dass dieses möglich war, erklärt sich aus folgendem: Man hatte zwar optische Hülfsmittel, die Bakterien zu sehen; man kannte die Formen, unter denen sie auftreten, sehr gut, man verstand aber nicht, aus einem Bakteriengemenge das einzelne Individuum, die einzelne Zelle herauszunehmen und für sich, isolirt, in ihrer Weiterentwickelung und in ihrem gesammten Verhalten zu studiren.

Dem genialen Blicke Robert Koch's war es vorbehalten, die Schwierigkeiten in diesem Punkte zu beseitigen. Durch Einführung einer neuen, überaus einfachen Methodik gelang es Koch, die einzelne Bakterienzelle zu isoliren und das Verhalten der isolirten Bakterienzelle unter den verschiedensten äusseren Bedingungen weiter zu studiren. Hierbei wurde sofort die Erkenntniss gewonnen, dass unter gleichen Bedingungen nicht alle Bakterienzellen sich gleich verhalten, sondern dass es sich bei den Bakterien um eine grosse Reihe von einander verschiedener Arten handelt, deren jede durch ein ihr eigenthümliches, specifisches Verhalten charakterisirt ist. Diese Erkenntniss ist der Grundstein, auf dem allein sich eine wissenschaftliche Erforschung des Gebietes aufbauen konnte. Nur die Isolirung der einzelnen Art ermöglichte es, ihre Eigenschaften festzustellen, ihre Lebensbedingungen, ihre Lebensäusserungen kennen zu lernen.

---

[1]) cf. Th. Billroth, Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica etc. Berlin 1874. — v. Nägeli, Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infektionskrankheiten etc. München 1877.

Die glänzenden Entdeckungen, welche dieser erste Schritt aus dem Dunkel in das Helle zur unmittelbaren Folge hatte, namentlich die Entdeckungen auf medicinischem Gebiete, haben das allgemeine Interesse der Gebildeten der Bakteriologie zugewandt. Für das erspriessliche Wirken des modernen Arztes aber ist es eine conditio sine qua non geworden, sowohl sich mit den Lebenseigenschaften der Bakterien im Allgemeinen vertraut zu machen, wie auch die speciellen Bakterienarten, die bei der Entstehung von Krankheiten eine Rolle spielen, des Näheren kennen zu lernen. Denn auf der ersteren Kenntniss beruhen die wichtigsten Theile unserer modernen Hygiene im Allgemeinen, auf ihr beruhen Desinfection und Antiseptik, beruht die chirurgische Aseptik mit ihren glänzenden Resultaten; die Kenntniss der speciellen Lebenseigenschaften der Krankheitserreger aber weist uns allein mit Sicherheit den Weg, den eine rationelle Prophylaxis gegen die einzelnen Seuchen zu beschreiten hat.

Mit diesen Punkten ist jedoch der praktische Nutzen der Bakteriologie nicht erschöpft. Die neue grosse Entdeckung Koch's, die Entdeckung der Heilung der Tuberculose, hat mit überwältigender Klarheit gelehrt, dass die Bakterienwissenschaft berufen ist, auch für die Heilkunde im engeren Sinne, für die Therapie, von grösster Bedeutung zu werden.

Die folgenden Blätter stellen sich die Aufgabe, den medicinischen Leser in das Gebiet der modernen Bakterienwissenschaft, soweit deren Kenntniss für ihn ein unumgängliches Bedürfniss ist, einzuführen; dem Bedürfnisse des Arztes entsprechend soll die mikroskopische Technik hierbei besonders berücksichtigt werden. Wir werden uns zunächst mit der allgemeinen Morphologie und Systematik der Bakterien, mit der allgemeinen Betrachtung ihrer Lebensbedingungen und Lebensäusserungen zu beschäftigen haben, um uns dann der allgemeinen Untersuchungsmethodik zuzuwenden. Dann werden wir die wichtigeren pathogenen Bakterienarten der Reihe nach zu betrachten haben (anhangsweise sollen auch die pathogenen Fadenpilze und die pathogenen Protozoën Erwähnung finden) und schliesslich auch einige der bekannteren nicht pathogenen Arten behandeln.

A. Allgemeines.

Morphologie, Systematik, Lebensbedingungen und Lebensäusserungen der Bakterien.

Beobachtungs- und Züchtungsmethoden.

I.

Allgemeine Morphologie und Systematik der Bakterien.

Ein natürliches System der Bakterien aufzustellen ist bisher nicht gelungen. Diese Aufgabe bleibt einer späteren Zeit vorbehalten. Ein natürliches System ordnet die einzelnen Species nach den natürlichen Verwandtschaften, wie sie sich aus der vergleichenden Betrachtung sämmtlicher Eigenschaften der einzelnen Arten ergeben; ein künstliches System greift ein einzelnes in die Augen fallendes Merkmal heraus und gruppirt danach. Da nun die Bakterienkunde eine noch junge Wissenschaft ist, und da demgemäss die Eigenschaften auch der wichtigsten Bakterienarten bis jetzt nur unvollkommen bekannt sind, so müssen wir uns vor der Hand noch mit einer künstlichen Classificirung begnügen. Ferdinand Cohn griff, als er 1872 sein System[1]) der Bakterien aufstellte, das Merkmal der Form heraus; nach der Form der Einzelzellen und nach der Form der Verbände, in denen diese Einzelzellen auftreten, theilte er die Bakterien ein. Diese Art der Eintheilung ist auch heute noch die allgemein gebräuchliche. Wir unterscheiden danach drei grosse Gruppen: Kugelbakterien (Mikrococcen, Coccen), Stäbchenbakterien (Bacillen) und Schraubenbakterien (Spirillen).

Die Kugelbakterien, Mikrococcen, stellen in einem gewissen Entwickelungsstadium (d. h. unmittelbar nach vollendeter Theilung der Mutterzelle) kugelrunde Zellen dar; die Stäbchenbakterien, Bacillen, sind Cylinder von kreisförmigem Querschnitt, deren Längsachse den Querdurchmesser an Ausdehnung übertrifft; die Schraubenbakterien, Spirillen, sind schraubenartig, korkzieherförmig gewundene Gebilde. Nach de Bary[2]) lassen sich die drei Formtypen

---

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. 1.

[2]) A. de Bary, Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1877. p. 8.

am besten veranschaulichen durch bezw. eine Billardkugel, einen Bleistift und einen Korkzieher. Auf Taf. I, Fig. 1 und 2, sind Bakteriengemische dargestellt; das eine zeigt Bakterien im Zahnbelage, das andere Bakterien in faulendem Fleischwasser. Man findet hier Angehörige jedes der drei Formtypen durcheinander gemengt. Es fällt an diesen Bildern (die ebenso wie die folgenden bei einer und derselben, nämlich 1000fachen Vergrösserung hergestellt sind und deshalb eine unmittelbare Grössenvergleichung der Bakterien zulassen) ohne Weiteres auf, dass es lange und kurze, dicke und schmale Bakterien giebt. Im Allgemeinen kann man sagen, dass die Dicke der Bakterienzellen sich nach Zehntausendsteln eines Millimeters bemisst, die Länge nach Tausendsteln. Es giebt aber nicht seltene Ausnahmen, in denen die Dicke einer Bakterienzelle $^1/_{1000}$ mm, 1 μ (Mikron), überschreitet. Beispiele davon sehen wir auf Fig. 2; die Dicke der einzelnen Glieder der vom linken zum oberen Rande der Figur ziehenden Bacillenkette beträgt auf dem Bilde 1,3—1,5 mm, d. h. in dem Präparate selbst 1,3—1,5 μ. Der Dickendurchmesser der Bakterien bleibt aber stets erheblich zurück hinter demjenigen der Zellen von Sprosspilzen (Hefen) und von Schimmelpilzen (Fadenpilzen), die wir bei bakteriologischen Untersuchungen nicht selten zu Gesicht bekommen. Auf Fig. 5 (Taf. I) sehen wir (in dem rechten unteren Quadranten dieser Figur) Gebilde, die man ihrer Form nach für Bacillen halten könnte. Betrachten wir jedoch die anderen Theile dieser Figur, ferner die danebenstehende Figur 6, welche denselben Organismus zeigt, so finden wir, dass es sich um einen zweigbildenden Organismus, um einen Fadenpilz handelt, der an einzelnen Stellen in kürzere, bacillenartig geformte Theile auseinander gefallen ist.[1]) Die Dicke der Zellen beträgt auf den beiden, 1000fach vergrösserten, Photogrammen 2—5 mm, d. h. in Wirklichkeit 2—5 μ. Ein derartiger Dickendurchmesser kommt bei Bakterien nicht vor. Ein anderes Beispiel eines Fadenpilzes zeigt Taf. XII, Fig. 71. Hier ist der Herpes tonsurans-Pilz bei 240facher Vergrösserung dargestellt. Die Zellen sind im Bilde 1,3—1,8 mm, d. h. in Wirklichkeit 5,4—7,5 μ dick. Auf Taf. II, Fig. 7, ist ein (in Sprossbildung begriffener) Sprosspilz (Hefepilz) dargestellt, dessen Zellen etwa 3 μ dick sind. Die Dickenverhältnisse der Zellen lassen die Bakterien von den eigentlichen Pilzen jedesmal mit Leichtigkeit sofort unterscheiden.

Die Bakterienzelle setzt sich zusammen aus einem (nach neueren Untersuchungen mit hoher Wahrscheinlichkeit als Kern aufzu-

[1]) Diesen Organismus fand ich einmal in normalen Faeces.

fassenden) Protoplasmakörper, welcher von einer Membran umschlossen ist. Das Bakterien-Protoplasma färbt sich wie andere protoplasmatische Körper durch Jod gelb bis braun, es lässt sich ebenso wie jene mit Carmin und mit Anilinfarben tingiren. Die Membran, aus einer festen celluloseartigen Substanz gebildet, geht nach aussen hin unmittelbar über in eine schleimige, in Wasser mehr oder weniger quellbare Hülle. Während diese meist eine nur geringe Ausdehnung besitzt und uns nicht besonders auffällt, erreicht sie in anderen Fällen eine im Vergleich zu dem Protoplasmakörper sehr erhebliche Ausdehnung. Man spricht dann von Kapselbakterien (Gloeococcus). Ein derartiges Beispiel zeigt Taf. XII, Fig. 67. Wir sehen hier den Friedländer'schen sogenannten Bacillus pneumoniae, dessen Protoplasmakörper durch Gentianaviolett intensiv dunkel tingirt ist, während die Hülle oder Kapsel sich als weniger intensiv gefärbte Masse kenntlich macht. Der Protoplasmakörper der Bakterien ist bei weitaus den meisten Arten farblos, chlorophylllos. Die Bakterien stellen sich in diesem Punkte und den daraus resultirenden physiologischen Eigenschaften den Pilzen nahe. Es giebt aber auch einzelne Bakterienarten, welche Chlorophyll enthalten, und bei denen demgemäss auch die physiologischen Eigenschaften von den gewöhnlich zu beobachtenden abweichen. Auch andere, dem Chlorophyll nahestehende Farbstoffe (z. B. das als echtes Chromophyll aufzufassende sogenannte Bacteriopurpurin) sind bei einzelnen Arten nachgewiesen. Auch können sich mehrere derartige Farbstoffe gleichzeitig neben einander vorfinden (Bütschli). Handelt es sich hier um Farbstoffe, mit deren Anwesenheit wichtige physiologische Functionen verbunden sind, so werden andererseits von sehr vielen (chromogenen) Bakterienarten Farbstoffe producirt, die wahrscheinlich nur als Stoffwechselproducte aufzufassen sind. Die hierhergehörigen Arten fallen in ihren Culturen ohne Weiteres durch die meist lebhafte Färbung derselben auf. Wo bei diesen Arten der Farbstoff ausgeschieden wird, ob in dem Protoplasma oder in der Membran oder ganz ausserhalb der Zelle, muss für jeden einzelnen Fall festgestellt werden und ist meist recht schwer zu entscheiden. Das Bakterienprotoplasma zeigt bei einer Reihe von Arten Stärke- (oder richtiger Granulose-) Gehalt; mit wässeriger Jodlösung färbt es sich hier dunkel indigoblau. Bei einzelnen Arten finden sich Schwefelkörnchen in dem Protoplasma vertheilt; andere zeigen Eisenoxyd in ihrer Hülle eingelagert.

Die Bakterienzelle als Ganzes ist bei manchen Arten gewiss ein relativ starres Gebilde; bei anderen Arten ist dies jedoch sicher nicht der Fall. Es ist mir öfters begegnet, dass ich bewegliche Bacillen,

welche in der Flüssigkeit als gerade Stäbe umherschwammen, sich durch enge Hindernisse hindurchdrängen sah. Hierbei verengerten sich die verschiedenen Stellen des Bakterienleibes der Reihe nach, dem Hindernisse entsprechend, und in schlangenartigen Windungen entwand sich die Zelle dem Engpasse, auf der anderen Seite als gerades Stäbchen weiterschwimmend.

Die Bakterien vermehren sich (abgesehen von der nur unter besonderen Bedingungen auftretenden sogenannten Sporenbildung) durch Theilung, durch Spaltung der einzelnen Zelle in zwei Zellen. Dies geht so vor sich, dass die Zelle in die Länge wächst, und dass sie sich dabei in der Mitte der Quere nach einschnürt. Ist die Einschnürung vollendet, so ist damit die ursprüngliche Zelle in zwei Zellen zerfallen, deren jede ebenso aussieht wie die Mutterzelle vor dem Beginne des Theilungsvorganges. Tafel II, Fig. 11, zeigt grosse Mikrococcen, die z. Th. in Theilung begriffen sind. Man sieht da ausser rein kugelförmig gestalteten Zellen solche, die in die Länge gezogen und deutlich eingeschnürt sind (Biscuit- oder Semmelform). Aber ausserdem bemerkt man auch vereinzelte, zwar von der Kugelform abweichende, längliche Gebilde, die aber noch keine deutliche Einschnürung zeigen. Diese Gebilde stellen das erste Stadium des Theilungsvorganges dar; sie zeigen zugleich, dass ein Mikrococcus nicht unter allen Umständen rein kugelförmig aussieht. Nur ein bestimmtes Stadium, nämlich das der eben vollendeten Theilung, bringt die Kugelgestalt rein zum Ausdruck, und an dieses Stadium muss man sich halten, wenn es sich im gegebenen Falle darum handelt, zu entscheiden, ob man eine bestimmte Bakterienart als Mikrococcus, d. h. Kugelbacterium, oder als Bacillus, d. h. Stäbchenbacterium, bezeichnen soll. Die Figuren 3, 4, 8—13 (Taf. I—III) zeigen eine Reihe von Bacillen- und von Mikrococcenformen; auf jedem Bilde findet man eine Anzahl von Zellen, welche in Theilung begriffen sind.

Die Richtung, in welcher die Verlängerung der sich zur Theilung anschickenden Zelle geschieht, entspricht bei den Bacillen und Spirillen der Längsrichtung des Individuums; bei den Mikrococcen entspricht sie in der Regel der Richtung, in welcher die Verlängerung bei dem vorhergehenden Theilungsprocesse erfolgte. Dies letztere gilt jedoch nicht ohne Ausnahme. Es giebt Mikrococcenarten, bei denen nach erfolgter Theilung der Zelle die beiden Tochtermikrococcen sich in einer Richtung theilen, die senkrecht auf der Richtung der ersten Theilung steht; es entstehen dann vier im Quadrat gruppirte Mikrococcen. Ein Beispiel hierfür zeigt Taf. XI, Fig. 64. Man bezeichnet solche Formen als Merismopedia (d. h. Tafelcoccen) oder als

Tetragenus. Haben wir hier eine Theilung nach zwei Richtungen des Raumes vor uns, so giebt es andererseits Mikrococcenarten, bei denen die Theilung in allen drei Richtungen des Raumes vor sich geht. Es entstehen so packetförmige Zusammenlagerungen von je acht Coccen. Solche Arten bezeichnet man als Sarcina (cf. Taf. III, Fig. 14).

Sehen wir von diesen Ausnahmen ab, so findet bei den Bakterien die Theilung stets in der Richtung statt, in der die vorhergehende Theilung stattfand. Ist die Theilung vollendet, so können die Tochterzellen aneinander hängen bleiben und so kettenartige Verbände bilden, die zunächst aus zwei, dann aus vier, acht u. s. w. Individuen bestehen. Taf. I, Fig. 4, zeigt solche Kettenbildung bei einer Art grosser und dicker Bacillen („Wurzelbacillen"); Taf. VI, Fig. 31, zeigt dieselbe Erscheinung bei den Milzbrandbacillen. Auf Taf. III, Fig. 13, sind Mikrococcenketten zu sehen. Mikrococcenarten, welche eine derartige kettenförmige Anordnung der Individuen zeigen, nennt man Streptococcus (στρεπτα = Halskette).[1] Handelt es sich hier um Verbände, die gewöhnlich aus einer grösseren Reihe von Einzelzellen zusammengesetzt auftreten, so giebt es andererseits Bakterienarten (besonders Mikrococcen), deren Zellen gewöhnlich zu zweien vereinigt, paarweise auftreten. Man spricht dann von Diplococcen. Beispiele derart zeigen Taf. II, Fig. 12; Taf. XI, Fig. 62 und 65. Bleiben Mikrococcen nach der Theilung nicht aneinander hängen, fallen sie auseinander, so kommen keine Kettenverbände zu Stande, sondern die Einzelzellen lagern sich, wie es der Zufall bringt, nebeneinander; solche Arten bezeichnet man als Staphylococcen (σταφυλη = Traube) nach den unter dem Mikroskop oft weintraubenartig erscheinenden Bildern, die derartig gelagerte Mikrococcen darbieten (cf. Taf. XI, Fig. 63). Bei den Bacillenarten spricht man je nach der Gestalt der Zellen resp. nach dem Verhältnisse ihres Längsdurchmessers zum Querdurchmesser von plumpen, von schlanken Bacillen, von Kurzstäbchen, von Langstäbchen. Es ist hier zu bemerken, dass von einigen Autoren synonym mit dem Begriffe Kurzstäbchen der Begriff „Bacterium" gebraucht wurde und noch wird. Gegen diesen Gebrauch ist nichts einzuwenden, wenn man sich nur stets dabei denkt, dass das Wort „Bacterium" hier im engeren Sinne angewendet wird, dass man eine bestimmte Form damit meint, während man unter Bakterien

---

[1]) Synonym mit „Streptococcus" wird, jedoch selten, das Wort „Torula" gebraucht. Diese Bedeutung des Wortes Torula ist nicht die gewöhnliche; gewöhnlich bezeichnet „Torula" Hefe.

im Allgemeinen die ganze grosse, oben näher definirte Gruppe niederster Pflanzen versteht, die die verschiedensten Coccen-, Bacillen- und Spirillenformen umfasst.

Es giebt Bacillenarten, deren Einzelindividuen sich nach der Theilung voneinander trennen, andere, deren Glieder nach der Theilung kettenförmig aneinander hängen bleiben. Bezüglich dieser Gruppirungsverhältnisse kommt es nun häufig sehr auf die äusseren Bedingungen an, unter denen das Wachsthum erfolgt. Betrachten wir beispielsweise den Milzbrandbacillus. Innerhalb des inficirten Thierkörpers (cf. Taf. V, Fig. 25—28) treffen wir die Stäbchen entweder einzeln oder zu kleinen Kettenverbänden angeordnet. In der künstlichen Cultur hingegen (cf. Taf. V, Fig. 29 und 30; Taf. VI, Fig. 31 und 34—36) finden wir den Milzbrandbacillus stets zu langen, manchmal gewiss Tausende von Gliedern umfassenden Ketten oder Fäden ausgewachsen. Derartige Beobachtungen kann man bei vielen Bacillenarten machen. Es giebt nun aber Bacillenarten, die stets in längeren Fäden verbunden (auch „Scheinfäden" genannt) auftreten. Hierhin gehören die in der Mundhöhle vegetirenden, als Mycothrix, Leptothrix, Streptothrix bezeichneten Bacillenarten (cf. Taf. IV, Fig. 19).

Was die Abtheilung der Spirillen (Beispiele auf Taf. I, Fig. 1; Taf. III, Fig. 15, 16; Taf. XII, Fig. 68) angeht, so ist zu bemerken, dass auch die als „Kommabacillen" bezeichneten Gebilde in diese Abtheilung gerechnet werden dürfen. Die Kommabacillen sind gekrümmte Stäbchen; die Krümmung liegt jedoch nicht in einer Ebene, sondern sie ist thatsächlich ein Bruchtheil einer Schrauben- oder Korkzieherwindung. Unter gewissen Umständen (in älteren Culturen) bleiben die Kommabacillen nach der Theilung aneinander hängen und bilden dann wirkliche Spirillen. Ein Beispiel sieht man auf Taf. X. Hier zeigt Fig. 55 die gewöhnliche kommaförmige Erscheinungsweise der Cholerabacillen, Fig. 56 zeigt dieselben Organismen zu Spirillen ausgewachsen. Für die Kommaorganismen ist auch der Ausdruck „Vibrionen" in Gebrauch.

Bezüglich der Anordnung der Bakterienverbände ist im Allgemeinen noch zu bemerken, dass man, besonders in wässerigen Flüssigkeiten, in welchen Bakterien wuchern, die letzteren häufig in voluminösen, relativ zähen, schleimigen Verbänden angeordnet findet. Hierher gehören z. B. die sogenannten Kahmhäute, welche man auf faulenden Infusen etc. häufig antrifft. Mikroskopisch constatirt man in solchen Fällen die Gallerthüllen der Einzelzellen miteinander verquollen, die Protoplasmakörper der Zellen durch die Gallerthüllen auseinander gehalten und in meist regelmässiger Anordnung in der Gallertmasse

vertheilt. Solche Bakterienmassen bezeichnet man als Zoogloea oder Palmella.

Beobachtet man Bakterien im lebenden Zustande in der Flüssigkeit, in der sie gewachsen sind, oder in einem anderen flüssigen Medium, welches ihre Weiterexistenz zulässt, so bemerkt man, dass die Zellen sich bewegen. Die Bewegungen, die man beobachtet, sind aber zweierlei verschiedener Art. Erstens zeigen die Bakterienzellen die Brown'sche Bewegung oder Molekularbewegung, wie sie kleinsten, in Flüssigkeiten suspendirten Körperchen stets zukommt. Die Zellen tanzen hin und her, auf und ab; die Bewegung jedes einzelnen Individuums steht in Beziehung zu der des Nachbars. Ausserdem kommt aber eine Eigenbewegung bei den Bakterien vor. Die Eigenbewegung ist nicht allen Arten eigenthümlich, sondern auf bestimmte Arten beschränkt. Sie findet sich zunächst ganz allgemein, ohne Ausnahme, bei den Spirillen und Kommabacillen (Vibrionen). Ferner findet sie sich bei einer grossen Reihe von Bacillenarten, während die übrigen Bacillenarten ohne Eigenbewegung sind. Bei den Mikrococcen kennt man Eigenbewegung nicht — mit einer einzigen Ausnahme. Diese wird gebildet von dem von Ali-Cohen[1]) aus Trinkwasser rein gezüchteten „Micrococcus agilis".

Um eine beobachtete Bewegung von Bakterien als Eigenbewegung anzusprechen, ist es nöthig, den Nachweis zu führen, dass das sich bewegende Individuum mit den Bewegungen der Nachbarn in keinem Zusammenhange stehende Ortsveränderungen ausführt. Dies ist manchmal gar nicht so sehr leicht zu entscheiden. Die Eigenbewegung kann zwar eine sehr lebhafte sein. Besonders bei Spirillen und Vibrionen, aber auch bei Bacillen, findet man nicht selten so lebhafte Bewegungen, dass es recht schwer wird, sich ohne Weiteres ein deutliches Bild der Gestalt der Zellen zu verschaffen: die Schrauben oder Stäbchen schiessen pfeilschnell durch das Gesichtsfeld, um nur für kurze Augenblicke hier oder da auszuruhen. Auf der anderen Seite aber kommen (bei Bacillen) so matte und träge Eigenbewegungen vor, dass es oft nicht leicht wird, dieselben von Molekularbewegungen zu unterscheiden.

Die Eigenbewegung der Bakterienzellen wird (nach Ermittelungen von Koch und von Loeffler) stets durch sogenannte Geisselfäden vermittelt, feinste fadenförmige Gebilde, welche meist an den Enden der Zelle angebracht sind und durch die von ihnen ausgeführten flimmernden Bewegungen Ortsveränderungen der Zelle veranlassen. Spirillen mit Geisselfäden zeigt Taf. III, Fig. 15 und 16, kurze Bacillen

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 2.

mit Geisselfäden sieht man auf Fig. 17 derselben Tafel; auf Fig. 18 ist der oben (p. 13) erwähnte geisseltragende Micrococcus agilis abgebildet. Taf. X, Fig. 57, zeigt die Kommabacillen der Cholera asiatica mit ihren Geisselfäden. Auf Taf. III, Fig. 16, sieht man an den Enden des grossen Spirillum regelrechte Büschel von Geisselfäden angebracht, während sonst allerdings meist nur ein einzelner Geisselfaden an dem Ende der Bakterienzelle angebracht ist. Die Länge und Gestalt der Geisseln sind bei den verschiedenen Bakterienarten verschieden. Die Anheftungsstelle der Geisseln liegt, wie wir bereits sagten, meist an dem Ende der Zelle; es sind jedoch eine Reihe von Bacillenarten aufgefunden worden, bei denen jedes Individuum eine ganze (mitunter ausserordentlich grosse) Anzahl von Geisselfäden trägt, die von seinen Seitenwänden ausgehen.[1])

Wir hatten oben gesehen, dass die Vermehrung der Bakterien durch Spaltung jeder einzelnen Zelle in zwei Zellen geschieht. Denken wir uns irgend eine Bakterienart unter günstigen äusseren Bedingungen, denken wir uns den Nährboden möglichst günstig zusammengesetzt, die Temperaturverhältnisse günstig, und denken wir diese Bedingungen ungeändert in gleicher Weise fortbestehen, so wäre kein Grund einzusehen, weshalb die Bakterien sich nicht in infinitum in gleicher Weise weiter theilen sollten. Nun liegen aber die Verhältnisse in Wirklichkeit nie derartig. Jeder Organismus lebt von gewissen Nährsubstanzen; er verbraucht diese Nährsubstanzen; bei seinem Stoffwechsel bilden sich gewisse Abfallproducte, welche er nicht weiter zu verwenden vermag. Auch der günstigste Nährboden, auf welchem Bakterien wachsen, wird in kürzerer oder weiterer Frist erschöpft an nothwendigen Nahrungsstoffen, er wird ausserdem mehr oder weniger beladen mit Stoffwechselproducten der Bakterien. Höchstens im kreisenden Blute eines inficirten Thieres könnten sich dort vegetirende Bakterien für gewisse Zeit in einem Zustande befinden, der den oben supponirten idealen Verhältnissen ähnlich ist; sie würden jeden Augenblick neue Nahrung erhalten, und ihre Abfallproducte würden ebenso ständig entfernt werden. Gemeinhin aber liegen die Dinge so, dass mit fortschreitendem Bakterienwachsthum der Nährboden sich verschlechtert. Die letzten Consequenzen davon würden die sein, dass die Bakterien auf dem Nährboden nicht mehr zu leben vermögen und zu Grunde gehen, absterben. Das geschieht nun in der That sehr häufig. Wir sehen dann an den Bakterienzellen zunächst sogenannte

---

[1]) Die erste derartige Beobachtung haben C. Fränkel und R. Pfeiffer (Mikrophot. Atlas der Bakterienkunde. Lief. 5. 1889. Tafel 24) publicirt.

Absterbeerscheinungen, Involutionserscheinungen auftreten. Die Zellen blähen sich auf, werden voluminöser, durchsetzen sich mit „Vacuolen“, das Protoplasma verliert seine normalen chemischen Eigenschaften (z. B. färbt sich lückenhaft und schlecht mit Anilinfarben), der Contour der Zellen wird undeutlicher, und dann sind die Zellen nicht mehr fähig, sich weiter zu vermehren, selbst wenn sie auf frischen Nährboden übertragen werden: sie sind abgestorben. Involutionsformen bei Milzbrandbacillen zeigt Taf. VI, Fig. 32; auf Taf. X, Fig. 56, sieht man Formen, wie sie bei der beginnenden Involution der Cholerabacillen auftreten.

Unter gewissen Bedingungen giebt aber die Verschlechterung des Nährbodens resp. die Erschöpfung desselben an Nahrungsstoffen Veranlassung zu der Bildung eigenthümlicher Fruchtformen, welche, teleologisch betrachtet, die Bestimmung haben, das Weiterbestehen der Art, solange die ungünstigen äusseren Verhältnisse andauern, zu vermitteln. Es ist dies die Bildung der sogenannten Dauersporen. Die Bildung von Dauersporen kommt fast ausschliesslich bei Bacillen vor; sie ist aber nur einer Anzahl von Bacillenarten eigenthümlich, während sie bei den anderen Bacillenarten fehlt. Sie ist ferner ausnahmsweise beobachtet bei ganz vereinzelten Spirillenarten; sie soll auch bei Sarcinen [1]) vorkommen können. Die Sporenbildung tritt aber bei den sporenbildenden Arten nicht ohne Weiteres jedesmal ein, wenn der Nährboden sich verschlechtert; es gehören hierzu noch ganz besondere Bedingungen, die für die verschiedenen Arten verschieden sind.

Der Vorgang bei der Sporenbildung ist im Allgemeinen der, dass zunächst eine Stelle des Bacillenleibes anfängt körnig zu werden, dass dann diese körnig gewordene Stelle sich durch eine feste, eigene Membran abschliesst gegen das übrige Bacillenprotoplasma, und dass der Inhalt dieser Membran dabei eine homogene Beschaffenheit annimmt. Es findet sich dann an der genannten Stelle ein homogenes, ölartiges, das Licht stark brechendes, bei gewisser Einstellung des Mikroskopes stark glänzend erscheinendes, meist länglichrund gestaltetes Körperchen, welches von der erwähnten Membran umschlossen wird. (Vgl. hierzu Taf. VI, Fig. 34: Lebende Milzbrandbacillenfäden mit Sporen.) Vor der Sporenbildung kommen übrigens die eigenbeweglichen Bacillenindividuen stets zur Ruhe. Ist die Spore in der geschilderten Weise fertig gebildet, so beginnt der übrige Bacillenleib zu zerfallen, und die Spore ist dann isolirt; sie bleibt dann unverändert, bis sie nach

---

[1]) G. Hauser, Ueber Lungensarcine. (Sitz.-Ber. Phys.-Med. Soc. Erlangen 1887. [München 1888.] p. 20.)

längerer oder kürzerer Zeit wieder auf einen günstigen Nährboden geräth. Dort keimt dann die Spore zu einem Bacillus aus, welcher sich durch Zweitheilung in der bekannten Weise weiter vermehrt. Die Sporen bezeichnet man als Dauerformen oder reproductive Formen gegenüber den sich zweitheilenden Formen, die man als vegetative oder als Wuchsformen bezeichnet.

Die Auskeimung der Spore, die Sporenkeimung, geht bei den verschiedenen Bacillenarten in verschiedener Weise vor sich. Bei dem Milzbrandbacillus z. B. verlängert sich die Spore in ihrer Längsachse, der Inhalt verliert sein glänzendes Aussehen, die Sporenmembran verwandelt sich ohne Weiteres in die Bacillenmembran, der Bacillus ist fertig. Bei anderen Bacillenarten kommt der Bacillus durch ein Loch in der Membran der Spore aus der letzteren heraus, die Sporenmembran kann dem jungen Bacillus wie eine Kappe aufsitzen etc.[1])

Die Sporenbildung kann in der Mitte des Bacillus auftreten (mittelständige Sporen), oder sie kann an einem Ende des Bacillus auftreten (endständige Sporen). In dem letzteren Falle kommt es dann, wenn die Bacillen einzeln liegen, zur Bildung sogenannter Köpfchenbakterien, Bacillen mit Köpfchensporen, Trommelschlägerformen. Bei manchen Bacillenarten, welche mittelständige Sporen bilden, kommt es bei der Sporenbildung zu einer dem Sitze der Sporen entsprechenden stärkeren Auftreibung des Stäbchens in der Mitte; sind nun die Enden des Stäbchens zugespitzt, so resultirt eine deutliche Spindelform. Solche Formen bezeichnet man als Clostridium. Auf Tafel VI, Fig. 34 und 35, sind mittelständige Sporen (Milzbrand), auf Taf. VII, Fig. 39, endständige Sporen (Tetanus) dargestellt. Man sieht auf Fig. 35 und 39 das Bacillenprotoplasma durch die angewandte Anilinfärbung tingirt (dunkel), während die Sporen mehr oder weniger ungefärbt (hell) geblieben sind. Dieselbe Erscheinung sieht man auch an den sporenhaltigen Leptothrixfäden, welche auf Taf. IV, Fig. 19, dargestellt sind. Es hängt dieses differente Verhalten des Bacillenprotoplasma und des Sporenleibes gegen Farbflüssigkeiten auf das Engste zusammen mit der Verschiedenheit der physiologischen Eigenschaften dieser beiden Dinge im Allgemeinen. Die Bacillensporen sind echte Dauerformen. Sie sind durch eine Membran gegen die Aussenwelt abgeschlossen, welche von einer solchen Resistenz gegen äussere Einwirkungen ist, wie man sie sonst in der organischen Natur nicht wieder findet, und die speciell mit der Resistenz des Bacillenkörpers gegen äussere Angriffe gar nicht zu vergleichen

---

[1]) Vergl. A. Koch, Bot. Ztg. 1888. No. 18—22.

ist. So sehen wir auch die Farbflüssigkeit in den Bacillenkörper eindringen, von der Sporenmembran dagegen zurückgehalten werden.

Die besprochene Art der Sporenbildung bezeichnet man als die endogene Sporenbildung, die Sporen als endogene Sporen, die Bakterienarten, bei denen diese Sporenbildung auftritt, als endospore Bakterienarten. Einzelne Autoren, namentlich de Bary und Hüppe, nehmen daneben noch eine andersartige Sporenbildung an: die Arthrosporenbildung (arthrospore Bakterien). Sie kommt nach de Bary allen den Bakterienarten zu, welche nicht endospor sind. Hier sollen einzelne Zellen, die sich zunächst in nichts von ihren Geschwistern unterscheiden, entweder ohne Änderung der Form, oder nachdem sie sich etwas vergrössert haben und event. etwas derbwandiger geworden sind, ohne Weiteres Sporenqualität annehmen; d. h. diese Zellen dienen, während die übrigen absterben, zum Ausgangspunkte einer späteren neuen Bakterienvegetation. Von einer ähnlichen Resistenz, wie sie die endogenen Sporen gegen äussere Angriffe zeigen, scheint bei den „Arthrosporen“ („Gliedersporen“) nicht die Rede zu sein. Die „Arthrosporen“ können deshalb auch nicht als Dauerformen in dem Sinne der den endogenen Sporen zukommenden Eigenschaften angesehen werden, und die ganze Frage nach den Arthrosporen hat mehr theoretische als praktische Bedeutung. Von Wichtigkeit ist es dagegen stets, zu wissen, ob eine bestimmte Bakterienart wirkliche Dauerformen, d. h. mit besonderer Resistenz ausgestattete Gebilde, zu produciren vermag; diese Eigenschaft aber findet sich nur bei den endosporen Arten.

Die Bakterien, soweit wir deren allgemeine Morphologie bisher betrachtet haben, zeigen in ihren Formverhältnissen die übereinstimmende Eigenthümlichkeit, dass eine jede einzelne Species eine bestimmte, stets wiederkehrende Form der Einzelzelle aufweist. Das ist nicht so zu verstehen, dass man aus einer bestimmten Form des Individuums ohne Weiteres jedesmal auf eine bestimmte Species schliessen kann; es giebt viele Fälle, in denen verschiedene Species dieselbe Form der Einzelzelle zeigen. Aber wir finden, dass bei jeder einzelnen Species die Form der Einzelzelle etwas constant Bleibendes, stets unverändert Wiederkehrendes ist. Handelt es sich um eine Bacillenspecies, bei der das Individuum abgestumpfte Enden hat, so kehren diese abgestumpften Enden bei der weiteren Vermehrung der Art stets unverändert wieder; ein Mikrococcus von bestimmter Grösse bildet bei seiner weiteren Vermehrung stets wieder Mikrococcen derselben Grösse etc. Mit einem Worte: eine jede Bakterienart hat die Eigenschaft der Formconstanz. Oben haben wir schon gesehen,

dass während des Theilungsprocesses die Individuen sich verlängern, und dass unter ungünstigen äusseren Verhältnissen sich Formänderungen, sogenannte Involutionsformen, auszubilden vermögen. Die Eigenschaft der Formconstanz gilt also nur für das Stadium der eben abgeschlossenen Theilung und für im Übrigen normale, günstige äussere Verhältnisse.

Man hat nun, und dieser Standpunkt wird namentlich von Zopf vertreten, gegenüber den Bakterien mit constanter Wuchsform auch sogenannte pleomorphe Bakterienarten statuirt. Hierhin gehören besonders die im Wasser vorkommenden Gattungen Cladothrix, Beggiatoa und Crenothrix. Dieselben treten in Fäden auf, welche in ihrer Dicke etwa dicken Bacillenarten entsprechen. Cladothrix ist durch Zweigbildung ausgezeichnet, Beggiatoa zeigt Schwefelkörnchen im Protoplasma eingelagert. Alle drei Gattungen zeigen in ihren Fäden einen deutlichen Gegensatz von Basis und Spitze; in den Entwickelungskreislauf aller drei sollen die verschiedensten Formen (Stäbchen, Coccen etc.) gehören. Ob diese „pleomorphen“ Gattungen wirklich zu den Bakterien gehören, erscheint sehr fraglich. Die Koch'sche Schule [1]) ist der Ansicht, dass dieselben „sicherlich nicht zu den Bakterien zu rechnen“ sind. Auf Taf. IV, Fig. 20, findet man eine Cladothrix (Cladothrix dichotoma Cohn?) bei 1000facher Vergrösserung abgebildet. [2])

---

[1]) cf. C. Fränkel, Grundriss d. Bakterienkunde, 2. Aufl. 1887. p. 10.

[2]) Diese Cladothrix, welche ich aus Berliner Leitungswasser cultivirte, und die ich in Reincultur besitze, wächst in Nährgelatine und auf Agar bei Zimmertemperatur gut, verflüssigt die Gelatine sehr langsam, färbt die Nährböden im Umkreise der Colonien braun.

II.

Allgemeine Lebensbedingungen der Bakterien.

Desinfection. Sterilisation. Antiseptik. Aseptik.

Die Bedingungen, welche vorhanden sein müssen, damit Bakterienwachsthum ermöglicht werde, sind je nach den verschiedenen Bakterienarten verschieden. Im Allgemeinen ist zunächst ein gewisser Wassergehalt des Nährbodens erforderlich, ohne den ja überhaupt organisches Leben undenkbar ist; ferner erfordern die allermeisten Bakterienarten einen Gehalt des Nährbodens an höheren organischen Verbindungen, da sie ihres Chlorophyllmangels wegen nicht im Stande sind, aus der Kohlensäure der Luft ihren Kohlenstoffbedarf zu entnehmen. Es bilden jedoch, wie bereits oben angegeben, einzelne Arten hierin eine Ausnahme; diese besitzen Chromophyll und vermögen Kohlensäure resp. Carbonate zu zerlegen. Diese wenigen Chromophyll führenden Bakterienarten sind auf Licht angewiesen; für die übrigen Arten jedoch, also für die grosse Mehrzahl der Bakterien, ist das Licht durchaus kein wachsthumsbegünstigender, sondern durchgängig ein wachsthumschädigender, und zwar sehr erheblich schädigender, Factor. Alle Bakterien sind wegen des Stickstoffgehaltes ihres Protoplasmakörpers auf stickstoffhaltigen Nährboden angewiesen; am besten eignen sich als stickstoffhaltiges Nährmaterial Eiweissstoffe; jedoch scheinen für einzelne Arten selbst die einfachsten Stickstoffverbindungen, Salpetersäure und Ammoniak, als Stickstoffquellen zu genügen.

Bekanntlich sind viele Bakterienarten Krankheitserreger, d. h. sie vermögen, in einen passenden Thierorganismus gelangt, auf Kosten des lebenden Materiales dieses Organismus sich zu vermehren. Man bezeichnet solche Bakterienarten als pathogene oder parasitische gegenüber den nicht pathogenen oder saprophytischen Arten, welche nur auf todtem Materiale leben. Unter den parasitischen Arten giebt es nun solche, die in der Natur, unter gewöhnlichen Verhältnissen, nur im Körper des lebenden Thieres resp. bestimmter Thierspecies,

nicht auf todtem Materiale, zu gedeihen vermögen. Diese bezeichnet man als obligate (strenge, echte) Parasiten gegenüber den facultativen (gelegentlichen) Parasiten, die sowohl im lebenden Thierkörper wie auch auf todtem Nährboden zu wachsen vermögen. Von den obligat-parasitischen Bakterienarten lassen sich manche auf bestimmten, künstlich zubereiteten Nährböden cultiviren; bei anderen obligaten Parasiten ist die künstliche Cultur bis jetzt überhaupt nicht gelungen.

Ferner ist die chemische Reaction des Nährbodens für das Gedeihen der Bakterien von erheblichem Belang. Die meisten pathogenen Arten wachsen am besten bei leicht alkalischer Reaction des Nährbodens. Gegen Säuren sind die Bakterien im Allgemeinen mehr oder weniger empfindlich, jedoch verhalten sich, wie in allen übrigen Lebensbedingungen, auch hierin die einzelnen Arten verschieden von einander. Während z. B. der Cholerabacillus schon durch sehr geringe Mengen freier Säure im Nährboden in seiner Entwickelung gehemmt wird, verträgt der Typhusbacillus erheblich grössere Mengen der freien Säure.

Ganz ausserordentlich verschieden verhalten sich die Bakterien zu dem freien Sauerstoff. Viele Arten wachsen nur bei fortwährender ungehinderter Sauerstoffzufuhr (obligate Aëroben), bei anderen wird im Gegentheil durch die geringste Spur freien Sauerstoffs die Entwickelung sofort sistirt (obligate Anaëroben), eine dritte Abtheilung nimmt eine Mittelstellung ein (facultative Anaëroben). Zu den letzteren, den facultativen Anaëroben, gehören die meisten pathogenen Bakterienarten. Es giebt aber mehrere wichtige pathogene Arten, welche obligate Anaëroben sind.

Von ausserordentlicher Bedeutung für das Bakterienwachsthum sind ferner die Temperaturverhältnisse. Auch hier zeigen wieder die verschiedenen Species verschiedenes Verhalten. Zunächst hat jede Art eine untere und eine obere Temperaturgrenze (Temperaturminimum, Temperaturmaximum), innerhalb deren überhaupt ein Wachsthum möglich ist. Die günstigste Temperatur für die Vermehrung einer Bakterienart bezeichnet man als ihr Temperaturoptimum. Im Allgemeinen findet Bakterienwachsthum statt zwischen Temperaturen von etwa 5° C. und etwa 45° C. Die Saprophyten wachsen im Allgemeinen besser bei niedrigerer, die Parasiten besser bei höherer Temperatur. Das Temperaturoptimum für die ersteren liegt gemeinhin um 20° herum, das der letzteren bei Körpertemperatur.[1]) Einzelne Bakterienarten jedoch fallen bezüglich ihrer Temperaturan-

[1]) C. Fränkel, Grundriss der Bakterienkunde. 2. Aufl. 1887. p. 25.

sprüche vollständig aus dem vorstehend gezeichneten Rahmen heraus. Globig[1]) hat in den oberflächlichen Bodenschichten in weitester Verbreitung das regelmässige Vorhandensein verschiedener Bacillenarten nachgewiesen, welche sich bei Temperaturen von 50—70 ° C. zu entwickeln vermögen, und Fischer[2]) fand im Kieler Hafen und Boden eine Reihe von Bakterienarten, die die Eigenschaft haben, bei 0 ° C. sich zu vermehren.

Bezüglich der Bedingungen, welche die Bakterien an den Nährboden resp. an die Aussenverhältnisse stellen, ist im Allgemeinen noch darauf aufmerksam zu machen, dass man bei vielen Arten eine allmählich zu Stande kommende Gewöhnung (Anpassung) an einen der Art Anfangs nicht zusagenden Nährboden resp. an nicht zusagende äussere Verhältnisse beobachtet hat. Besonders bei zahlreichen pathogenen Arten hat man ein derartiges Verhalten constatirt. Freilich sind damit stets gewisse Aenderungen auch in den Lebensäusserungen verknüpft, die manchmal den Verlust sehr wichtiger, für die Art ursprünglich characteristischer Eigenschaften bedeuten.

Vorstehend haben wir versucht, die wichtigsten Punkte, auf die es für das Bakterienwachsthum im Allgemeinen ankommt, zu skizziren. Eine jede Art stellt bezüglich jedes einzelnen Punktes ihre besonderen Ansprüche. Sind die Bedingungen resp. eine oder mehrere derselben ungünstig, so kommt es auf den Grad des Missverhältnisses an bezüglich der daraus resultirenden Folgen. Bei minder ungünstigen Verhältnissen wird das Wachsthum nur verzögert oder auch inhibirt (Entwickelungshemmung), die weitere Vermehrungsfähigkeit aber noch nicht aufgehoben; bei längerer Andauer der ungünstigen Verhältnisse resp. wenn die Qualität der Verhältnisse eine noch ungünstigere wird, kann auch die fernere Vermehrungsfähigkeit endgültig aufgehoben werden (Vernichtung).

Was speciell ungünstige Temperatureinflüsse angeht, so ist darüber im Allgemeinen folgendes zu sagen: Setzt man eine Bakterienart Temperaturen aus, die ausserhalb der für ihr Wachsthum noch geeigneten Grenztemperaturen liegen, so tritt zunächst eine Sistirung der Entwickelung ein. Die weiteren Wirkungen sind jedoch ganz verschieden, je nachdem die einwirkende Temperatur unterhalb des Temperaturminimums oder oberhalb des Temperaturmaximums der Art liegt. Selbst die niedrigsten künstlich zu erzeugenden Temperaturen vermögen im Allgemeinen auch bei längerer Einwirkung die fernere Entwickelungs-

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1887.

[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 3.

fähigkeit der Bakterien nicht aufzuheben, während andrerseits bei Temperaturen von 55° bis 60° C. die vegetativen Formen der Bakterien im Allgemeinen in kurzer Zeit sicher getödtet werden. Ganz anders freilich verhalten sich die Bacillensporen, zu deren Vernichtung ganz erheblich höhere Temperaturen erforderlich sind.

Liegen die Bedingungen, und zwar nicht nur die Temperaturbedingungen, sondern die gesammten Lebensbedingungen, in einem gegebenen Falle zufällig so, dass in jedem einzelnen Punkte die Ansprüche auf das Beste erfüllt sind, so ist das Wachsthum das üppigste, schnellste, das überhaupt möglich ist. Gewöhnlich liegen die Bedingungen aber nicht in allen Punkten so günstig. Es ist nun in dieser Beziehung äusserst interessant, dass ungünstige Bedingungen des einen Punktes durch günstige eines anderen Punktes compensirt werden können. Zum besseren Verständniss dieser wichtigen Thatsache will ich einige Beispiele anführen. Der Cholerabacillus wächst auf geeignetem Nährboden bei Zimmer- sowohl wie bei Brüttemperatur; bei der letzteren wächst er aber stets erheblich besser. Der Cholerabacillus wächst ferner am besten auf einem leicht alkalischen Nährboden; gegen geringste Mengen freier Säure zeigt er sich empfindlich. Bringt man ihn nun auf die (leicht sauer reagirende) gekochte Kartoffel, so wächst er bei Zimmertemperatur hier nicht; er wächst aber auf diesem ihm recht wenig zusagenden Nährboden, wenn man denselben in den Brütschrank stellt. Es ist hier also die ungünstige chemische Beschaffenheit des Nährbodens compensirt worden durch die sehr günstigen Temperaturverhältnisse. Etwas Analoges beobachtet man z. B. auch bei den Milzbrandbacillen, welche ebenfalls sowohl bei Zimmer- wie bei Brüttemperatur, bei der letzteren aber stets erheblich besser, gedeihen. Bringt man diese Organismen in eine Nährgelatine (cf. weiter unten), der soviel Sublimat zugesetzt ist, dass 400000 Theile des Nährbodens 1 Theil Sublimat enthalten, so wachsen hier die Milzbrandbacillen bei Zimmertemperatur (16—18° C.) durchaus nicht. Bringt man die Sublimatgelatine aber in den Brütschrank, so gedeihen nun die Milzbrandbacillen auf ihr. Bei Brüttemperatur (36° C.) wirkt entwickelungshemmend auf Milzbrandbacillen erst etwa das Zehnfache von demjenigen Gehalt des Nährbodens an Sublimat, der bei Zimmertemperatur das Wachsthum verhindert (Behring).

Veränderungen in den Culturbedingungen haben ausnahmslos eine Veränderung auch der Lebensäusserungen zur Folge. Die letzteren können geringfügiger Natur sein, sich auf Aenderung in der Schnelligkeit des Wachsthums etc. beschränken. Sie können jedoch auf der andern Seite auch sehr wesentlicher Natur sein und

wichtige Umänderungen in dem gesammten Lebensprocesse der Art bedeuten. So wächst z. B. der Bacillus prodigiosus am besten bei Zimmertemperatur. Er producirt hier auf den Nährböden einen intensiv rothen Farbstoff; Hand in Hand damit geht die Production von Trimethylamin (Geruch nach Heringslake). Züchtet man den genannten Bacillus bei Brüttemperatur, so bleibt sowohl die Farbstoffproduction wie auch die Bildung von Trimethylamin vollständig aus. Im Uebrigen ist das Wachsthum ein sehr gutes bei der Brüttemperatur.

Im Anschluss an die geschilderten allgemeinen Lebensbedingungen der Bakterien möge hier ein Kapitel kurz berührt werden, welches in seinen Grundlagen mit den Bedingungen für das Leben und Sterben der Bakterien auf das Engste verknüpft ist: das Kapitel der Desinfection.

Wenn irgend welche Gegenstände desinficirt werden sollen, so heisst das soviel, als: es sollen die an oder in ihnen befindlichen krankheitserregenden organischen Keime getödtet werden, ohne dass, falls die zu desinficirenden Gegenstände Gebrauchsgegenstände sind, diese selbst erheblich geschädigt resp. unbrauchbar gemacht werden. Der letztere Punkt, d. h. die Rücksichtnahme auf die fernere Brauchbarkeit der zu desinficirenden Gegenstände, ist aber von untergeordneter Bedeutung gegenüber dem anderen Punkte: der Nothwendigkeit der endgültigen Vernichtung der pathogenen organischen Keime.

Wir haben bereits gesehen, dass die Bakterienkeime von sehr verschiedener Resistenz gegen äussere Einwirkungen sind, je nachdem es sich um vegetative Formen oder um Sporen handelt. Ein Desinfectionsverfahren, welches allgemeine Anwendbarkeit für jedwede Form von Infectionskrankheit haben soll, muss demnach so eingerichtet sein, dass durch dasselbe die widerstandsfähigsten Sporen, welche wir bei krankheitserregenden Bakterien kennen, getödtet werden. Handelt es sich um ein Desinfectionsverfahren, welches nur für die Zerstörung ganz bestimmter Krankheitskeime, nur für die einer einzelnen Infectionskrankheit, bestimmt ist, so braucht dasselbe natürlich nur auf die specielle Natur der in Frage kommenden Krankheitserreger Rücksicht zu nehmen.

Ein dem Begriffe der Desinfection sehr nahestehender Begriff ist der der Sterilisation; man versteht hierunter das Keimfrei- (Steril-) machen irgend welcher Instrumente, Apparate, Nährböden etc., wobei man nicht speciell an krankheitserregende Keime, sondern an Keime von Organismen überhaupt denkt.

Die Tödtung von Bakterienkeimen kann nun hauptsächlich auf zweierlei Art geschehen: durch hohe Temperaturen und durch chemische

Mittel (Desinfectionsmittel). Wenn wir unsere Messer, Scheeren, Platindrähte etc. zum Zwecke der Benutzung bei bakteriologischen Arbeiten keimfrei haben wollen, so werden dieselben in der Flamme des Bunsen'schen Gasbrenners oder in der Spiritusflamme „ausgeglüht" resp. bis in die Nähe der Glühhitze gebracht. Die den Instrumenten anhaftenden Bakterienkeime werden dabei sämmtlich augenblicklich zerstört. Wenn wir Leichen von Versuchsthieren resp. die in ihnen befindlichen Bakterien unschädlich machen wollen, so verbrennen wir die Leichen im Ofen. Diese einfachen Manipulationen, bei denen sehr hohe Temperaturen zur Bakterienvernichtung in Anwendung kommen, sind nicht überall am Platze. Man hat sich deshalb mit niedrigeren Temperaturen zu behelfen gesucht und (früher) mit stark erhitzter (trockener) Luft „desinficirt".

Die grundlegenden Versuche von R. Koch und Wolffhügel[1]) haben nun aber gezeigt, dass die trockene heisse Luft ein höchst unzweckmässiges Desinfectionsmittel ist. Damit alle Bakterienkeime getödtet werden, ist dreistündige Einwirkung einer Temperatur von 140 ° C. nothwendig, und hierbei werden „fast alle Stoffe, welche der Hitze-Desinfection zugänglich sind, mehr oder weniger beschädigt."[2]) Nichts desto weniger bedienen wir uns in gewissen Fällen auch heute noch der Einwirkung von heisser trockener Luft zum Zwecke der Desinfection, oder besser Sterilisation, wobei aber noch erheblich höhere Temperaturen als 140 ° C. zur Anwendung kommen. Es geschieht dies, wenn wir im Laboratorium trockene leere Glasgefässe oder Metallinstrumente, die ohne Schaden zu nehmen derartigen Temperaturen ausgesetzt werden können, steril, keimfrei machen wollen. Sie werden dann in den Trockenschrank oder Heissluftsterilisationsapparat[3]) gebracht, einen doppelwandigen Kasten von Schwarzblech, dessen Inneres mit Hülfe einer untergestellten kräftigen Gasflamme, und zwar durch die den Zwischenraum zwischen den Wandungen durchstreichenden Heizgase der letzteren, in wenigen Minuten auf 160—170 ° C. erhitzt werden kann. Die Bakterienkeime werden durch derartig hohe Temperaturen in etwa einer Stunde sämmtlich sicher vernichtet.

Viel energischer als die trockene heisse Luft wirkt der heisse Wasserdampf auf Bakterien ein. Die grundlegenden Versuche von R. Koch, Gaffky und Löffler[4]) haben in dem strömenden, ungespannten Wasserdampfe von 100 ° C. ein ebenso bequemes,

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881.

[2]) l. c. p. 312.

[3]) Koch, Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 47.

[4]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881.

überall leicht anzuwendendes, wie in der Sicherheit seiner Wirkung kaum mit irgend einem anderen vergleichbares Desinfectionsmittel kennen gelehrt.

Die resistentesten Krankheitskeime, welche wir kennen, sind die Milzbrandbacillensporen. Unter diesen giebt es wiederum je nach der Provenienz des Materiales, wie v. Esmarch[1]) gefunden hat, schwächer und stärker widerstandsfähige. Die am stärksten widerstandsfähigen Milzbrandbacillensporen hielten es allerdings in einem einzigen der sehr zahlreichen v. Esmarch'schen Versuche bis zu zwölf Minuten in dem strömenden Dampfe von 100° C. aus, ohne vernichtet zu werden; die Mehrzahl der Sporen zeigt sich jedoch bereits nach fünf Minuten vernichtet. In dem strömenden Wasserdampfe von 100° C. haben wir demnach ein für alle Zwecke der Praxis genügendes, absolut zuverlässiges Desinfectionsmittel. Die modernen Desinfectionsanstalten, wie sie von Gemeindeverwaltungen zum öffentlichen Gebrauche in den Städten eingerichtet werden, wenden fast ausschliesslich den strömenden Wasserdampf an. Im Laboratorium bedient man sich für die Zwecke der Desinfection resp. Sterilisation durch Dampf des sog. Dampftopfes, eines mit Filz oder Asbest umkleideten, oben mit einem Deckel versehenen Zinkblechcylinders, dessen Inneres durch einen im unteren Drittel angebrachten Rost in zwei Abtheilungen eingetheilt ist, von denen die untere zum Theile mit Wasser gefüllt wird, während die obere zur Aufnahme der zu sterilisirenden Gegenstände dient; das Wasser wird durch die Flamme eines unter den Kupferblechboden des Cylinders gestellten starken Gasbrenners in's Kochen gebracht.

Noch erheblich stärker keimtödtend als der strömende, ungespannte Dampf von 100° C. wirkt der gespannte Wasserdampf von höherer Temperatur. Globig[2]) fand bei Gelegenheit seiner Studien über im Erdboden vorkommende, bei hohen Temperaturen wachsende Bacillenarten (cf. oben p. 21) einen eigenthümlichen, durch rothe Färbung seiner Colonien ausgezeichneten, übrigens nicht pathogenen Bacillus („rother Kartoffelbacillus"), dessen Sporen eine ganz ungewöhnliche Widerstandsfähigkeit zeigen. Die letztere geht bei Weitem über die der Milzbrandbacillensporen hinaus; eine grössere Widerstandsfähigkeit organischer Keime ist überhaupt nicht bekannt.

Diese Sporen wurden
im strömenden Dampfe von 100° C. erst nach $5\frac{1}{2}$—6 Stunden vernichtet,

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1888.
[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1887.

im gespannten Dampfe von	109—113 ⁰ C.	lebten sie nach 45 Min.	noch,
„ „ „ „	113—116 ⁰ C.	wurden sie in 25 Min.	vernichtet
„ „ „ „	122—123 ⁰ C.	„ „ „ 10 „	„
„ „ „ „	126 ⁰ C.	„ „ „ 3 „	„
„ „ „ „	127 ⁰ C.	„ „ „ 2 „	„
„ „ „ „	130 ⁰ C.	„ „ augenblickl.	zerstört.

Aus der vorstehenden Tabelle sieht man, dass mit steigender Temperatur die Desinfectionskraft des (gespannten) Wasserdampfes zunimmt, und es liegt deshalb sehr nahe, daran zu denken, dass an Stelle der mit strömendem Dampfe arbeitenden Apparate viel besser die mit gespanntem Dampfe arbeitenden Apparate zu benutzen wären. Zweierlei steht jedoch der allgemeinen Einführung der letzteren entgegen. Wenn ein Desinfectionsapparat mit gespanntem Dampfe arbeiten soll, so setzt dies einen hermetisch verschliessbaren Raum voraus, in welchem die Dämpfe entwickelt werden. Es ist aber, bevor der genannte Raum geschlossen wird, unumgänglich nothwendig, dass auch die letzten Spuren atmosphärischer Luft aus demselben entfernt werden, dass nur Dampf in ihm enthalten ist. Denn erhitzte Luft ist ein sehr unzuverlässiges Desinfectionsmittel, wie wir oben gesehen haben, und es würde durch das Zurückbleiben von Luft in dem Apparate der Erfolg der Desinfection ein zweifelhafter werden. Der Zeitpunkt aber, in welchem alle Luft entfernt ist, ist gar nicht ganz leicht festzustellen; es erfordert dies jedenfalls ein besonders geschultes Personal. Der zweite Grund, welcher der Einführung derartiger Apparate entgegensteht, ist der der Explosionsgefahr. Zur Aufstellung derselben bedarf es stets besonderer polizeilicher Genehmigung. Beide Punkte kommen nicht in Betracht bei den gebräuchlichen, mit ungespanntem Dampfe von 100 ⁰ C. arbeitenden Desinfectionsapparaten.

Jeder Dampfdesinfectionsapparat sollte so construirt sein, dass der Dampf an der obersten Stelle des Desinfectionsraumes in den letzteren eingeleitet wird, und dass er an der untersten Stelle desselben wieder austritt. Da der Dampf specifisch leichter ist als die atmosphärische Luft, so kommt nur bei dieser Anordnung eine möglichst schnelle Verdrängung der Luft durch den Dampf zu Stande.

Man hat übrigens daran gedacht, ungespannten Wasserdampf von 100 ⁰ C. über stark erhitzte Metallflächen streichen zu lassen, um ihm dadurch eine höhere Temperatur zu verleihen, ohne dass dabei seine Spannung eine höhere würde. Solcher ungespannter strömender überhitzter Dampf verhält sich nun, wie Versuche von v. Esmarch [1])

---

[1]) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. 3. 1887.

gezeigt haben, in seiner keimtödtenden Kraft genau wie erhitzte trockene Luft, d. h. er ist für die Zwecke der Desinfection im Allgemeinen ebenso unbrauchbar wie heisse, trockene Luft.

Die Gebrauchsgegenstände des täglichen Lebens, welche in den Desinfectionsanstalten mit strömendem Wasserdampfe behandelt werden, vertragen im Allgemeinen diese Procedur ausgezeichnet. Kleider, Wäsche, Betten, Bücher kommen aus dem Apparate unversehrt hervor. Sie trocknen an der Luft in kürzester Frist und sind dann wieder gebrauchsfähig. Nur Leder macht hierin eine Ausnahme. Leder wird durch die Dampfbehandlung in eine starre, brüchige, absolut unbrauchbare Masse verwandelt.

Die im Vorhergehenden geschilderten Methoden der Desinfection durch höhere Temperaturen verwenden Hitzegrade von 100° C. oder darüber. Gelegentlich der Besprechung der Bereitung der bakteriologischen Nährböden werden wir eine Methode kennen lernen, welche eine sichere Sterilisirung für gewisse Zwecke bei erheblich niedrigeren Temperaturen (68—70° C.) ermöglicht (cf. Sterilisirung des Blutserums).

Ausser durch hohe Temperaturen kann nun eine Sterilisirung oder Desinficirung auch durch chemische Mittel bewirkt werden. Es giebt eine ganze Reihe von Körpern, welche, in flüssiger Form mit Bakterienkeimen kürzere oder längere Zeit in Berührung gebracht, die letzteren mehr oder weniger schädigen resp. tödten. Durch grundlegende Versuche R. Koch's[1]) wurde der Nachweis erbracht, dass solche Körper in Wasser gelöst sein müssen, damit sie auf die Bakterienzelle einwirken können. Oelige oder alkoholische Lösungen haben eine desinficirende oder keimtödtende Wirkung nicht. Koch fand, dass, wie dies für die Desinfection durch Hitze gilt, so auch einem jeden chemischen Desinfectionsmittel gegenüber sich Dauerformen und vegetative Formen durchaus verschieden verhalten. Die letzteren werden stets erheblich leichter vernichtet als die Sporen.

Die vegetativen Formen der Bakterien haben im Allgemeinen die Eigenschaft, dass sie die völlige Wasserentziehung, das Austrocknen, nur kürzere Zeit ertragen. Im Allgemeinen werden Bakterienwuchsformen durch wenige Tage langes Trockenliegen resp. durch wenige Tage lang andauernde Wasserentziehung getödtet. Einzelne Species sind ausserordentlich leicht durch Austrocknen zu vernichten. Hierhin gehört z. B. der Cholerabacillus, welcher nach mehrstündigem (etwa dreistündigem) wirklichem Austrocknen[2]) nicht mehr keimfähig, d. h.

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte Bd. 1. 1881. — [2]) Ein wirkliches Austrocknen ist in kürzester Zeit nur dann zu erreichen, wenn die bacillenhaltige Flüssigkeit in dünnster Schicht angetrocknet wird (z. B. am Deckglase).

todt ist. Die Dauerformen der Bakterien hingegen werden, soweit unsere Erfahrungen reichen, durch auch noch so lange Wasserentziehung nicht beeinflusst.

Die Kenntniss dieser Verhältnisse ist nothwendig, wenn man das Verhalten von bestimmten chemischen Mitteln Bakterien gegenüber zu prüfen hat. Als Koch[1]) z. B. die Einwirkung von 5 proc. Carbolöl (Olivenöl) auf Milzbrandbacillen (nicht Sporen) studirte, fand er, dass die Bacillen nach sechstägigem Aufenthalte in dem Carbolöl todt waren. Genau dasselbe Resultat erhielt er mit 1 proc. Carbolöl, genau dasselbe auch mit reinem Olivenöl. Alle diese Körper wirkten, ebenso wie eine 5 proc. alkoholische Carbolsäurelösung auf Milzbrandsporen auch bei monatelanger Berührung nicht im mindesten ein.[2]) Früher schon hatte R. Koch[3]) nachgewiesen, dass in dünnen Schichten angetrocknete sporenfreie Milzbrandbacillen durch das Austrocknen in 12—30 Stunden ihre Keimfähigkeit verlieren. In den eben geschilderten Versuchen mit den öligen Flüssigkeiten haben die letzteren also nicht nur nicht irgendwie die Tödtung der Bacillen beschleunigt, sondern sie haben höchst wahrscheinlich sogar etwas conservirend auf die Bacillen gewirkt, da dieselben sich erst nach sechs Tagen abgestorben zeigten. Es ist dies vielleicht dadurch zu erklären, dass die öligen Flüssigkeiten das völlige Austrocknen etwas verzögerten.

Die oben citirten Koch'schen Desinfectionsversuche haben eine Reihe von grundlegenden Daten festgestellt. Koch wies die völlige Unwirksamkeit von Alkohol, von Glycerin, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol auf Milzbrandsporen nach. Er fand andererseits, dass frisch bereitetes Chlorwasser, Bromwasser (2:100), Jodwasser gute Desinficientia sind. Dieselben vernichteten Milzbrandsporen innerhalb eines Tages. Dasselbe that 1 proc. wässerige Osmiumsäurelösung sowie 1 proc. wässerige Kaliumpermanganatlösung. Terpentinöl brauchte fünf Tage, 5 proc. wässerige Eisenchloridlösung sechs Tage, 2 proc. wässerige Salzsäurelösung zehn Tage, Aether dreissig Tage, um dieselbe Wirkung auszuüben. Besonders interessant waren die Ergebnisse für wässerige Carbolsäurelösungen. Eine 1 proc. sowohl wie eine 2 proc. Lösung wirkten nicht mit Sicher-

---

[1]) l. c. p. 251.

[2]) Wie Teuscher (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890. p. 510) kürzlich gefunden hat, bleiben sehr widerstandsfähige Milzbrandsporen in reinem crystallisirten Phenol (Carbolsäure), welches im Brütschrank flüssig gehalten wird, bis zu $4\frac{1}{2}$ Tagen entwickelungsfähig.

[3]) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1876. p. 291.

heit auf Milzbrandsporen; eine 3 proc. brauchte sieben Tage, eine 4 proc. drei Tage, eine 5 proc. zwei Tage, um Milzbrandsporen zu vernichten. Die letzteren Zahlen gelten jedoch nicht für Milzbrandsporen jedweder Provenienz. Nach den oben citirten Ermittelungen von E. v. Esmarch giebt es Milzbrandsporen, welche die Einwirkung 5 proc. wässeriger Carbolsäurelösung länger als vierzig Tage ohne Schädigung ertragen.

Als das mächtigste chemische Desinfectionsmittel ergab sich bei den Koch'schen Versuchen das Quecksilberchlorid (Sublimat). Durch eine $^1/_{10}$ proc. wässerige Lösung dieses Körpers zeigten sich Milzbrandsporen innerhalb weniger Minuten vernichtet. Die Milzbrandsporen wurden bei diesen Versuchen, an kurzen Seidenfäden angetrocknet, dem Desinfectionsmittel ausgesetzt. Nach gewisser Zeit wurden die Seidenfäden aus der Sublimatlösung herausgenommen, mit Wasser und (zur Entfernung der letzten Reste des in Wasser schwer löslichen Sublimats) mit Alkohol abgespült und dann zur Untersuchung der Keimfähigkeit auf künstlichen Nährboden oder in den Körper eines für Milzbrand empfänglichen Versuchsthieres gebracht. Ein Ausbleiben der Entwickelung von Milzbrandbacillen in den Culturen resp. das dauernde Gesundbleiben des Thieres wurde als beweisend angesehen für die gelungene Sporenvernichtung.

Später hat jedoch Geppert[1]) gezeigt, dass das Ausbleiben des Auskeimens und der weiteren Entwickelung der Milzbrandsporen unter den geschilderten Umständen nicht jedesmal mit Sicherheit als endgültige Vernichtung der Sporen aufgefasst werden darf. Geppert wies nach, dass an Sporen, welche mit Sublimatlösung behandelt, mit Wasser und Alkohol abgespült sind, immer noch geringe Reste von Sublimat anhaften, und dass diese Reste es sind, welche die fernere Entwickelung der Sporen auf den geeignetsten Nährböden verhindern. Durch Behandlung mit Schwefelammonium liessen sich diese Sublimatreste leicht ausfällen, und dann waren die Sporen wieder keimfähig. Die Zerstörung der Milzbrandsporen kann, wie Geppert fand, bereits innerhalb vier Secunden durch $^1/_{10}$ proc. Sublimatlösung wirklich erfolgen; aber selbst nach einstündiger Einwirkung ist der Erfolg *nicht sicher*. Geppert stellte übrigens seine Versuche nicht mit Seidenfäden, an denen Sporen angetrocknet sind, an; diese Seidenfäden setzen dem Eindringen des Desinfectionsmittels immer einen gewissen Widerstand entgegen: er stellte sich vielmehr eine dünne Aufschwemmung isolirter Sporen in Wasser dar und schuf dadurch die

---

[1]) Berl. klin. Woch. 1889. No. 36, 37.

denkbar günstigsten Bedingungen für die Einwirkung der Desinfectionsflüssigkeit auf die Sporen.

Sublimatlösungen sowohl wie Carbolsäurelösungen gewinnen durch Zusatz von Säuren ganz erheblich an keimtödtender Kraft. Ausserdem hat der Zusatz von Säure ($^1/_2$ $^0/_0$ Salzsäure oder Weinsäure) zu Sublimatlösungen noch den Vortheil, dass sich die letzteren selbst bei Benutzung gewöhnlichen Wassers dauernd unzersetzt erhalten, was ohne diesen Zusatz nur bei Anstellung der Flüssigkeit mit reinstem destillirten Wasser und Aufbewahrung im Dunkeln der Fall ist. Statt der Säure kann auch Kochsalz als Zusatz genommen werden.[1])

Die sogenannte rohe Carbolsäure, ein in Wasser unlösliches Gemisch verschiedener Phenole, harziger Stoffe und anderer Körper, vermochte Laplace[2]) durch Vermischen mit roher Schwefelsäure in eine wasserlösliche Substanz („rohe Schwefelcarbolsäure") überzuführen, die sehr erhebliche desinficirende Eigenschaften hat. C. Fraenkel[3]) hat gefunden, dass diese Eigenschaften noch wesentlich zunehmen, wenn die Mischung nicht, wie es Laplace that, bei höherer Temperatur, sondern im Gegentheil unter energischer Abkühlung durch Eis, vorgenommen wird. In der resultirenden Flüssigkeit sind durch den Säurezusatz die höher (bei 185—205 ° C.) siedenden Homologen des Phenols, die Methylphenole oder Kresole, welche in der rohen Carbolsäure in unlöslichem Zustande vorhanden waren, wasserlöslich geworden; diese Körper, die Kresole, sind mit ganz hervorragenden keimtödtenden Eigenschaften ausgestattet.

An dieser Stelle mag auch das englische (Pearson'sche, Jeyes'sche) Creolin erwähnt werden, welches ein Gemisch von Seife, Kohlenwasserstoffen, Pyridinen und Phenolen ist, und welches unter Umständen, nämlich wenn es in eiweissfreien Lösungen auf Bakterienkeime einwirkt, ein vortreffliches Desinfectionsmittel ist (Behring).

Als brauchbares Desinfectionsmittel hat sich ferner der Aetzkalk herausgestellt; namentlich für Faeces, für Abortgruben verdient derselbe Empfehlung (Pfuhl).

Wenn wir hier die wichtigsten chemischen keimtödtenden Mittel kurz betrachtet haben, so wollen wir andererseits darauf verzichten, die vielerlei anderen chemischen Körper, welche auf ihre keimtödtenden Eigenschaften untersucht worden sind, zu berühren.[4]) Es sei aber

---

[1]) cf. Angerer Centr. f. Chir. 1887. No. 7. — Laplace, Deutsche med. Woch. 1887. No. 40. — Michaelis, Zeitschrift für Hyg. Bd. 4. 1888.

[2]) Deutsche med. Woch. 1888. No. 7.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

[4]) Eine ausführliche Darstellung des gegenwärtigen Standes der Frage

auf eine Reihe wichtiger principieller Punkte hingewiesen, die bei Prüfung chemischer Körper auf ihre desinficirenden (bakterienschädigenden) Wirkungen zu beachten sind.[1]) Zunächst kommt es sehr an auf die chemische Beschaffenheit des Desinfectionsobjectes, d. h. des Mediums, in welchem das Mittel auf die Bakterien einwirkt. Wie Behring fand, werden z. B. Milzbrandbacillen, die in Wasser vertheilt sind, schon in wenigen Minuten durch einen Sublimatgehalt von 1:500000 sicher getödtet, in Bouillon erst durch einen Gehalt von 1:40 000, während in Blutserum, wenn die Desinfection in wenigen Minuten erfolgen soll, ein Sublimatgehalt von 1:2000 noch nicht immer ausreicht. Ferner gilt der Desinfectionswerth, den ein bestimmtes Mittel der einen Bakterienart gegenüber besitzt, durchaus nicht ohne Weiteres für das Verhalten des Mittels gegen jede beliebige andere Bakterienart. Ferner kommt es, wie das bereits aus den oben (p. 28) citirten Koch'schen Desinfectionsuntersuchungen hervorgeht, an auf die Dauer der Einwirkung des Desinfectionsmittels. Je kürzere Zeit ein Mittel einwirkt, in desto stärkerer Lösung muss es vorhanden sein, damit derselbe Effect erzielt wird. Ein weiterer, ausserordentlich wichtiger Punkt ist, wie A. Henle[2]) gefunden hat, die Temperatur, bei welcher das Desinficiens einwirkt. Je höher die Temperatur, um so energischer der Desinfectionseffect. Auch kommt es, wie zuerst Nissen[3]) betont hat, auf die Zahl der Bakterienzellen an, welche im gegebenen Falle abzutödten sind. Eine grössere Anzahl erfordert eine grössere Menge des Mittels. Endlich muss man die Prüfung auf die eventuell erfolgte Abtödtung der Bakterien, oder, was dasselbe ist, die Prüfung, ob ihre Keimfähigkeit erhalten geblieben ist, einwandsfrei einrichten. Es kommt vor, dass Bakterien, die der Einwirkung eines Mittels unterworfen wurden, bei der nachfolgenden Prüfung ihrer Entwickelungsfähigkeit, wenn dieselbe bei einer der Art weniger zusagenden Temperatur vorgenommen wird, nicht wachsen, während sie dagegen sofort sich weiter entwickeln, wenn sie in möglichst günstige Temperaturverhältnisse gebracht werden. Man muss deshalb die Prüfung stets bei dem Temperaturoptimum der zu dem Versuche benutzten Bakterienart anstellen.

Es sei noch auf eine interessante allgemeine Beziehung hinge-

---

der Desinfection durch chemische Mittel findet man bei Behring (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890).

[1]) In den nachfolgenden Zeilen lehne ich mich an die eben citirte Arbeit Behring's an.

[2]) Arch. f. Hyg. Bd. 9. 1889.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 495.

wiesen, die zwischen der Giftigkeit chemischer Körper für Bakterien und ihrer Giftigkeit für den thierischen Organismus zu bestehen scheint. Behring[1]) fand für eine ganze Anzahl von bakterienschädigenden (antiseptischen) Stoffen, dass die tödtliche Dosis derselben für ein Kilo Kaninchen oder Maus ziemlich genau ein Sechstel beträgt von derjenigen Dosis, welche in einem Kilo Blutserum das Wachsthum der Milzbrandbacillen verhindert. Behring nennt diese Beziehung die „relative Giftigkeit" und sagt: die relative Giftigkeit von Carbolsäure, Sublimat, Jodtrichlorid, Creolin u. s. w. ist gleich 6. Für den thierischen Organismus ungiftige Antiseptica werden sich wohl kaum auffinden lassen.

Allgemein bekannt ist die grosse Bedeutung, welche die Verhältnisse, die bei der künstlichen Vernichtung der Bakterien, speciell der Vernichtung durch chemische Mittel, in Frage kommen, für die operative Medicin, für Chirurgie und Geburtshülfe haben. Der moderne Chirurg kommt relativ seltener in die Lage, antiseptisch vorgehen zu müssen; dagegen ist es stets seine erste Sorge, „aseptisch" zu arbeiten, d. h. mit keimfreien Fingern, keimfreien Instrumenten, keimfreien Verbandstoffen zu operiren. Fürbringer[2]), welcher sich bemüht hat, ein möglichst sicheres Verfahren zur Desinfection der Hände zu finden, wendet nach einander, je eine Minute lang, an: Seife mit Bürste und warmem Wasser, Alkohol (mindestens 80 procentig), 2 promill. Sublimatlösung. Diese Methode hat bereits eine grosse Verbreitung gefunden. — Die Verbandstoffe werden jetzt meist im strömenden Wasserdampfe sterilisirt und in dadurch geschaffenem keimfreien Zustande ohne Zusatz antiseptischer Substanzen verwendet.

Am Schlusse dieses Kapitels wollen wir noch auf die mächtigen Wirkungen hinweisen, die dem Lichte den Bakterien gegenüber zukommen (cf. p. 19). Durch directes Sonnenlicht werden Milzbrandsporen in Bouillon binnen wenigen Stunden vernichtet (Arloing). Aber auch das zerstreute Tageslicht hat deutlich bakterienschädigende Eigenschaften. Culturen der Tuberkelbacillen sterben, wenn sie dicht am Fenster aufgestellt sind, in 5—7 Tagen ab. (Koch[3]).

Kürzlich ist auch über bakterienschädigende Wirkungen der Inductionselectricität berichtet worden (Spilker und A. Gottstein[4]).

---

[1]) cf. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 475 ff.

[2]) Untersuchungen und Vorschriften über die Desinfection der Hände des Arztes etc. Wiesbaden. 1888.

[3]) 10. internat. medic. Congress. Berlin. 1890.

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891. No. 3/4.

III.

Allgemeine Lebensäusserungen der Bakterien.

Bei dem Wachsthum und der Vermehrung der Bakterien treten eine grosse Reihe von Erscheinungen zu Tage, die sämmtlich in letzter Linie darauf zurückzuführen sind, dass durch den Lebensprocess der Bakterien die complicirten Verbindungen, aus denen der Nährboden zusammengesetzt ist, in einfachere übergeführt werden. So wie aber eine jede einzelne Art ihre eigenen specifischen Lebensbedingungen hat, so sind auch die Processe, welche mit dem Bakterienwachsthum verknüpft sind, und die Erscheinungen, welche durch dasselbe veranlasst werden, die Lebensäusserungen, für die einzelnen Arten verschieden.

Was die chemischen Processe betrifft, die bei dem Wachsthum der Bakterien in die Erscheinung treten, so können hierbei (als Stoffwechselproducte) die einfachsten chemischen Verbindungen gebildet werden: Kohlensäure, Wasserstoff, Methan, Schwefelwasserstoff, Ammoniak u. dgl. Ferner kommt es bei den Zersetzungen des Nährbodens zur Bildung der verschiedenartigsten Fermente[1]) oder Enzyme. So giebt es Bakterienarten, welche diastatische Fermente bilden (d. h. solche, die Stärke in Traubenzucker umwandeln); andere bilden invertirende Fermente (Umwandlung von Rohrzucker in Traubenzucker); andere Bakterienarten bilden peptonisirende Fermente, d. h. solche, die geronnenes Eiweiss, erstarrte Gelatine lösen (peptonisiren); andere Bakterien bringen durch Production von Labferment Milch zur Gerinnung (Ausfällung des Caseïns).

Ferner werden durch Bakterien die verschiedenartigsten Gährungen[2]) zu Stande gebracht. Unter Gährung versteht man die Zerlegung organischen Materials unter Gasentwickelung. Eine Anzahl von Arten vergährt Zucker unter Bildung von Milchsäure (Milch-

[1]) cf. Flügge, Die Mikroorganismen. 2. Aufl. Leipzig 1886. p. 466 ff.
[2]) cf. Flügge, l. c. p. 483 ff.

säuregährung); andere vergähren Stärke und Zucker unter Bildung von Buttersäure (Buttersäuregährung); bei den beiden Arten der Gährung wird zugleich Kohlensäure, bei der Buttersäuregährung ausserdem Wasserstoff gebildet. Weitere Arten der Gährung sind die besonders in Wein auftretende schleimige oder Mannitgährung, welche durch Bildung einer fadenziehenden, schleimigen Gummiart und von Mannit und Kohlensäure aus Traubenzucker characterisirt ist; ferner die Essiggährung (Verwandlung des Aethylalkohols durch Oxydation in Essigsäure).

Zu den Gährungen gehören auch die verschiedenartigen Fäulnissprocesse [1]), d. h. die Zersetzungen stickstoffhaltiger organischer Massen unter Entbindung stinkender Producte (Eiweissgährung). Im Allgemeinen hat man zwei verschiedene Arten der Zersetzung der complicirten stickstoffhaltigen organischen Verbindungen, der Eiweissstoffe, durch Bakterien zu unterscheiden. Die eine ist die Fäulniss, die andere die Verwesung. Die Fäulniss (unter der wir, wie eben gesagt, die Zersetzung des Eiweissmoleküls unter Auftreten stinkender Producte verstehen) findet fast immer unter Abschluss von Sauerstoff [2]) statt. Sie wird bedingt durch den Lebensprocess anaërober Bakterien, sie stellt einen Reductionsprocess [3]) dar. Im Gegensatz dazu bildet die Verwesung einen Oxydationsprocess; sie findet statt unter der Mitwirkung von atmosphärischem Sauerstoff.

Bei der Fäulniss werden nie so einfache Verbindungen gebildet wie bei der Verwesung, aus der schliesslich die allereinfachsten anorganischen Verbindungen, Nitrate, Sulfate, Kohlensäure, hervorgehen.

Pasteur, welcher diese Vorgänge bekanntlich zum Gegenstande umfassender, grundlegender Untersuchungen gemacht hat, hat dadurch zuerst Aufklärung gegeben über die wichtige allgemeine Rolle, die den Bakterien in dem Haushalte der Natur zugewiesen ist. Das organische Leben producirt fortlaufend Massen von complicirten stickstoffhaltigen Verbindungen. Den Bakterien fällt die Aufgabe zu, diese complicirten Verbindungen in einfachere, in einfachste, anorganische, für die höhere Pflanzenwelt assimilirbare Verbindungen überzuführen; die Pflanzenwelt sorgt dann ihrerseits im Verein mit der Thierwelt wieder für den Aufbau des complicirt zusammengesetzten Eiweissmole-

[1]) cf. Flügge, l. c. p. 493 ff.

[2]) In Ausnahmefällen können auch bei Sauerstoffanwesenheit stinkende Producte bei der Zerlegung der Eiweisskörper durch Bakterien entstehen.

[3]) Nach Behring sind mit der stinkenden Fäulniss stets Reductionsprocesse verbunden.

küls aus diesen einfachsten Verbindungen. So dienen die Bakterien als Vermittler organischen Sterbens und Lebens; durch ihre Mitwirkung wird es ermöglicht, dass die organische Welt im Gleichgewichte bleibt.

Von ganz besonderer Bedeutung sind die geschilderten Verhältnisse für die Landwirthschaft. Wenn das Feld gedüngt ist, so müssen die complicirten organischen Verbindungen, welche der Dünger enthält, zunächst durch einen durch Bakterien bedingten Verwesungsvorgang in die einfachsten, für die Pflanzen assimilirbaren Verbindungen übergeführt werden. Dies kann, wie erörtert, nur unter Sauerstoffzutritt geschehen; und es ist deshalb eine Auflockerung des Erdreiches resp. eine grobporige Bodenbeschaffenheit erforderlich, damit nicht nur an der Oberfläche des Bodens, sondern auch mehr in die Tiefe hinein der Sauerstoff Zutritt hat. Ein gewisser Wassergehalt des Bodens ist zum Zustandekommen der Verwesungsprocesse natürlich erforderlich; denn ohne Wasser können Bakterien nicht wachsen; ein zu grosser Wassergehalt aber würde die Bodenporen verschliessen und die Entstehung von Fäulniss im Boden bedingen.[1])

Die chemische Reaction des Nährbodens wird durch Bakterienwachsthum fast stets geändert. Man kann danach die Bakterien in solche eintheilen, welche Säuren, und in solche, welche Alkalien produciren.[2])

Unter den chemischen Körpern, welche bei dem Lebensprocesse der Bakterien entstehen, nehmen eine besondere Stellung ein die sogenannten Fäulnissalkaloide (Leukomaïne, Ptomaïne), complicirte stickstoffhaltige Verbindungen basischer Natur, die zum Theil äusserst giftig sind und dann als Toxine bezeichnet werden. Um die Erforschung dieses Gebietes hat sich besonders Brieger verdient gemacht. Eine ganze Reihe von Körpern, welche hierher gehören, sind von Brieger sowohl aus künstlichen Culturen bestimmter (meist

---

[1]) cf. E. Wollny, Ueber die Beziehungen der Mikroorganismen zur Agricultur. Centr. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 15—16.

[2]) cf. J. Petruschky, Bakterio-chemische Untersuchungen. Centr. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 23—24, Bd. 7. 1890. No. 1—2. Der Autor stellte seine Untersuchungen an einer neutralen Lackmusmolke an. (Der Lackmuszusatz zu bakteriologischen Nährböden behufs Erkennung der Aenderung der chemischen Reaction des Nährbodens ist von H. Buchner [Arch. f. Hyg. Bd. 3. 1885] zuerst angegeben.) Es kommt bezüglich der unter dem Einflusse von Bakterienwachsthum sich ausbildenden Reaction die ursprüngliche Zusammensetzung des Nährbodens sehr in Betracht. Kleine Mengen von Traubenzucker im Nährboden geben häufig, auch bei alkalibildenden Bakterienarten, zu einem primären Auftreten von freier Säure Veranlassung. (Behring, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889. p. 178.)

pathogener) Bakterienarten wie auch aus Thierorganismen, welche mit bestimmten Bakterienarten inficirt waren, dargestellt worden. Eine Gruppe anderer giftiger Stoffwechselproducte pathogener Bakterienarten, welche keine Alkaloide, sondern Eiweisskörper sind und als Toxalbumine bezeichnet werden, haben Brieger[1]) und C. Fraenkel entdeckt.

Die genannten giftigen Stoffwechselproducte spielen eine wesentliche Rolle bei jeder durch Bakterien veranlassten Infectionskrankheit. Auf die durch sie bedingte Intoxication des thierischen Organismus sind namentlich die allgemeinen klinischen Symptome, welche bei Infectionskrankheiten beobachtet werden, zu beziehen. Wir werden dieses Gebiet weiterhin noch zu betrachten haben.

Zu den Lebensäusserungen der Bakterien gehört auch die Production von Farbstoffen (cf. oben p. 9), welche z. Th. von ausserordentlicher Schönheit sind. Man nennt die Farbstoff producirenden Bakterienarten chromogene Arten (Pigmentbakterien). Andere Arten lassen den (durchsichtigen) Nährboden prachtvoll fluoresciren; wieder andere leuchten in ihren Culturen im Dunkeln (phosphoresciren).

Zu den Lebensäusserungen der Bakterien gehört endlich die Eigenthümlichkeit vieler Arten, im Thier- (oder Pflanzen-) Körper Krankheitsprocesse hervorzurufen. Wir werden die hierher gehörigen Verhältnisse zum Gegenstande einer besonderen eingehenden Betrachtung machen.

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 11—12.

IV.

Allgemeine Methodik der Bakterienbeobachtung.

1. Die Ausrüstung des Arbeitstisches.

Wenn man sich mit Bakterienuntersuchungen beschäftigen will, so braucht man zunächst eine Reihe von Instrumenten, unter denen das Mikroskop das wesentlichste ist.

Das Mikroskop besteht aus einem optischen und einem mechanischen Theile. Von diesen ist der optische Theil der wichtigere, und man wird daher bei der Beschaffung eines Mikroskopes zunächst auf eine zweckentsprechende Beschaffenheit dieses Theiles zu sehen haben. Der optische Theil des Mikroskopes setzt sich aus einem Beobachtungsapparat, bestehend aus Objectiv und Ocular, und aus einem Beleuchtungsapparat, bestehend aus Beleuchtungsspiegel und Condensorsystem, zusammen. Die genannten optischen Stücke werden durch das sogenannte Stativ in Verbindung mit einander gebracht. Ihre Stellung zu einander kann durch besondere mechanische Einrichtungen, welche sich an dem Stative vorfinden, je nach dem vorliegenden Bedürfnisse modificirt werden. Es ist nun zwar richtig, dass auch mit einem mangelhaften Stative, falls nur der optische Theil des Mikroskopes gut ist, gearbeitet werden kann. Wer geschickt ist, kann sich für bestimmte Zwecke vorübergehend mit einem derartig mangelhaften Instrumente behelfen. Wer aber nicht nur vorübergehend mit dem Mikroskope arbeiten, wer Freude am mikroskopischen Arbeiten haben will, wer ein universell anwendbares Instrument braucht, der darf nicht bloss auf den optischen Theil des Mikroskopes Rücksicht nehmen, sondern er muss darauf sehen, dass auch das Stativ den modernen Anforderungen genüge. Beiden Bedingungen, nämlich den optischen sowohl wie den mechanischen, genügen nur die Mikroskope leistungsfähigster Werkstätten,

sogenannter „erster Firmen“.[1]) Man lasse sich nicht durch den niedrigeren Preis verleiten, ein Mikroskop zu kaufen, an welchem man hinterher beim Gebrauch einen Fehler nach dem anderen entdeckt.

Bei der Anschaffung eines Mikroskopes, welches zu Bakterienuntersuchungen bestimmt ist, sind nun eine Reihe von speciellen Punkten zu berücksichtigen. Von Objectiven braucht man mindestens zwei, nämlich ein schwaches (Zeiss AA, Leitz 3) und ein starkes (Zeiss Oel-Immersion 2 mm oder $^1/_{12}$", Leitz Oel-Immersion $^1/_{12}$"), von Ocularen ebenfalls zwei (Zeiss 2, 4, Leitz 1, 4). Man hat so schwache Vergrösserungen von ca. 50—100 und starke von ca. 500—1000 zur Verfügung. Sehr angenehm ist daneben noch der Besitz eines mittleren Objectives (Zeiss DD, Leitz 7), welches ca. 200—450 fache Vergrösserung giebt. Der Tubus soll sowohl durch groben Trieb wie durch Mikrometerschraube verstellbar sein. Der Objecttisch darf nicht zu klein sein, so dass man Culturplatten bequem untersuchen kann. Das Condensorsystem, welches zur Beleuchtung der Objecte dient, soll nach der von Abbe (cf. weiter unten) angegebenen Weise construirt und auf- und abwärts (am besten durch Trieb) verschieblich sein; der Beleuchtungsspiegel soll in seinem Durchmesser den des Abbe'schen Beleuchtungskörpers etwas überschreiten. Sehr nothwendig, kaum zu entbehren für Bakterienuntersuchungen, ist eine Vorrichtung zum schnellen und bequemen Wechseln der Objective (Revolver).

Das wesentlichste und bedeutendste Stück des gesammten Mikroskopes ist das „Oel-Immersions-System“, das Objectivsystem, welches wir stets benutzen, wenn es sich um eine möglichst stark vergrösserte Darstellung des Objectes handelt. Bei diesem System wird die Oberfläche des Deckglases des Präparates mit der Front-

---

[1]) Allen voran schreitet die Firma Carl Zeiss in Jena. Diese Firma lässt sich die höchsten Preise bezahlen; sie liefert aber auch das Beste. Die sogenannten „Apochromat-Objective“ von Zeiss sind das Vollendetste, was von Objectiven existirt. Ebenso wird die Firma hinsichtlich der übrigen optischen Theile der Mikroskope sowie hinsichtlich der Stative von keiner anderen Firma übertroffen. Neben Zeiss sind ferner zu nennen Ernst Leitz in Wetzlar (die äusserst preiswerthen Instrumente dieser Firma, welche sich in der Form an die Zeiss'schen anlehnen, werden für die Zwecke bakteriologischer Untersuchung sehr viel verwendet), W. & H. Seibert in Wetzlar, Dr. E. Hartnack in Potsdam, C. Reichert in Wien und Andere.

Eine ständige Ausstellung der Instrumente der genannten Firmen findet man in dem „Magazin für Mikroskopie“ von G. König, Berlin N.W., Dorotheenstr. 29, welches bezüglich der Anschaffung jede gewünschte Auskunft ertheilt und die Instrumente zu Fabrikpreisen abgiebt. Hier findet man auch alle übrigen für unsere Zwecke nothwendigen Utensilien, Farbstoffe etc.

linse des Objectivs stets verbunden durch ein Tröpfchen eines Oeles (Cedernöl), welches dasselbe Brechungsvermögen für das Licht (denselben Brechungs-Exponenten) besitzt wie das Glas. Es wird also zwischen Deckglas und Objectivfrontlinse durch das dazwischen gebrachte Cedernöl eine optisch homogene Verbindung hergestellt („Homogene Immersion"). Die von dem Objecte ausgehenden Strahlen gelangen ohne irgend welche Ablenkung in das Objectiv. Es gelangt also ein viel grösserer von dem Objecte ausgehender Strahlenkegel zur Wirkung, als es ohne die Zwischenlage des Cedernöles der Fall sein würde, d. h. die Lichtstärke und damit auch das Leistungsvermögen eines solchen Objectives (das Auflösungsvermögen) müssen viel grösser sein als die Lichtstärke und das Leistungsvermögen eines Systems von derselben Vergrösserung, welches ganz ohne Zwischenlage („Trockensystem") arbeitet; das Leistungsvermögen muss auch grösser sein als das eines Systems, welches nur Wasser als Immersions-Flüssigkeit verwendet („Wasser-Immersions-System").[1]) — Die Immersions-Methode ist von Amici, die homogene Immersion von Stephenson erfunden. Die ersten derartigen Objective wurden von Abbe[2]) und Zeiss construirt.

---

[1]) Die in ein Objectivsystem tretende Strahlenmenge wird gemessen durch den Oeffnungswinkel des Systems. Der Oeffnungswinkel hat seinen Scheitel im Brennpunkte des Systems; seine Schenkel werden gebildet durch zwei einander gegenüberliegende Mantellinien des von dem Brennpunkte ausgehenden, in das System eintretenden Strahlenkegels. Der Oeffnungswinkel kann naturgemäss niemals den Grenzwerth von 180° erreichen. Die Brechungsverhältnisse, welche bei Benutzung eines Trockensystems an der Oberfläche des Deckglases statthaben, bringen es nun mit sich, dass einem von dem Deckglase ausgehenden, die Luft durchsetzenden Strahlenkegel von beispielsweise 180° Weite ein erheblich engerer ursprünglich von dem Objecte ausgehender, das Deckglas durchsetzender Strahlenkegel entspricht; der letztere würde, den Brechungsexponenten des Glases zu 1,52 gerechnet, nur 82° 17′ Weite haben. Da nun bei der homogenen Immersion eine jede Ablenkung der Strahlen zwischen Object und Objectiv wegfällt, so nimmt ein Oel-Immersions-System mit einem Oeffnungswinkel von 82° 17′ genau dieselbe Strahlenmenge auf wie ein ideales (übrigens praktisch unmögliches) Trockensystem mit einem Oeffnungswinkel von 180°. Die blosse Angabe des Oeffnungswinkels eines Systems ohne Angabe, ob es sich um ein Trockensystem, um Wasser- oder Oel-Immersion handelt, giebt also keine Ausdruck für die Leistungsfähigkeit des Systemes. Aus diesem Grunde hat Abbe den Begriff der „numerischen Apertur" geschaffen. Derselbe berücksichtigt zu gleicher Zeit den Oeffnungswinkel und den Brechungsexponenten des zwischen Deckglas und Objectivfrontlinse befindlichen Mediums. Man erhält die numerische Apertur, wenn man den genannten Brechungsexponenten mit dem Sinus des halben Oeffnungswinkels multiplicirt. Der Grenzwerth der numerischen Aperturen beträgt, wie sich aus dem Gesagten leicht ableiten lässt, für Trockensysteme 1,0, für Wasser-Immersionen 1,33, für homogene Immersionen 1,52. — [2]) Abbe: Ueber Stephenson's System der homo-

Ausser dem Mikroskope brauchen wir für die Bakterienbeobachtung resp. für die Darstellung von Bakterienpräparaten eine Reihe von Utensilien, deren nothwendigste etwa folgende sind:

Objectträger. Dieselben sollen von weissem Glase, etwa 1,2 mm (jedenfalls nicht über 1,5 mm) dick sein. Das gangbarste Format ist das sogenannte englische (26 : 76 mm).

Objectträger mit hohlem Ausschliff (hohlgeschliffene Objectträger).

Deckgläser. Man benutzt am bequemsten quadratische Deckgläser von 18 mm Seitenlänge. Die Dicke soll etwa 0,15—0,17 mm betragen. Sind die Deckgläser mehrere Hundertstel Millimeter dicker, so gelingt es oft bei Schnitten nicht mehr, das Object mit starken Objectiven in allen seinen Theilen einzustellen; sind sie dünner, so zerbrechen sie zu leicht beim Reinigen [1]) etc.

Flaschen, Glasschälchen, Glastrichter von verschiedener Grösse.

Weite Standgefässe von Glas mit eingeschliffenem Stöpsel zum Härten von Organstücken.

Kleine Glasflaschen mit weitem Hals und übergreifendem aufgeschliffenem glockenförmigem Verschluss zur Aufnahme von Cedernöl und Canadabalsam. Nach Abnahme des Verschlusses sieht ein kleiner, frei in der Flasche stehender Glasstab zur Flaschenöffnung heraus, mit Hülfe dessen die genannten Flüssigkeiten tropfenweise herausgenommen werden können.

Zwei Glasmensuren von 10 und 100 ccm Inhalt.

Uhrschälchen von c. 60 mm Durchmesser.

Mehrere, kleinere und grössere, nicht zu stark federnde [2]) Pincetten.

Skalpells, Scheren.

Feine Nähnadeln. Nadelhalter.

Ein kleiner Messingspatel, dessen Ebene man etwa 2 cm vom Ende entfernt stumpfwinklig umbiegt.

---

genen Immersion bei Mikroskop-Objectiven. (Sitz.-Ber. d. Jenaischen Gesellsch. f. Med. u. Naturwiss. 10. Januar 1879.)

[1]) Die Deckgläser werden von Staub etc. am besten so gereinigt, dass man sie (in grösseren Mengen) zunächst mit Alkohol übergiesst, den man dann von den einzelnen Gläschen mit dem Lappen wegwischt. Gewöhnlich bleiben auf den Deckgläsern auch bei dieser Behandlung mit Alkohol noch Spuren von Fett zurück; dieselben werden am besten durch Erhitzen der Gläser in der nicht leuchtenden Flamme des Bunsen'schen Brenners entfernt.

[2]) Mit stark federnden Pincetten ist das Arbeiten, speciell das Halten der Deckgläser etc., ein ausserordentlich unbequemes.

Platindrähte, nicht zu dünn, etwa 60—70 mm lang, an Glasstäben angeschmolzen, z. Th. mit ösenförmig gebogenem Ende.

Bunsenbrenner oder Spirituslampe.

Fliesspapier, Tuschpinsel, Leinwandlappen, Präparatenetiketts, Cartons resp. Kästchen zur Aufnahme von Präparaten u. s. w.

Sehr angenehm ist es ferner, ein gutes Mikrotom zur Hand zu haben. Hier sind besonders die Instrumente der Firmen Jung in Heidelberg, Schanze in Leipzig, Becker in Göttingen zu nennen. Die von Schanze (Weigert'sches Mikrotom) sind die compendiösesten und für unsere Zwecke gebräuchlichsten. Der wichtigste Theil des Mikrotoms ist das Messer, auf dessen Instandhaltung man die grösste Sorgfalt verwenden muss. Bei dem Mangel eines Mikrotoms kann man sich auch mit einem guten Rasirmesser, dessen Klinge auf der einen Seite plan geschliffen ist, behelfen.

Ausserdem brauchen wir eine Reihe von Chemikalien, deren wichtigste nachstehend aufgeführt sind:

Destillirtes Wasser.
Alcohol absolutus.
Äther.
Chloroform.
Xylol.
Officinelle Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure.
Eisessig (Essigsäure).
Kali aceticum.
Kali- oder Natronlauge.
Ammoniak.
Jod.
Jodkalium.
Glycerin.
Anilin (Anilinöl).
Carbolsäure (Phenol).
Cedernöl.
Nelkenöl.
Canadabalsam.
Gummi arabicum.
Celloidin.
Vaselin.
Verschlusslack.

Farbstoffe: Carmin, Pikrinsäure, Eosin, Methyl- oder Gentianaviolett, Fuchsin, Methylenblau, Bismarckbraun (Vesuvin).

Die Chemikalien, namentlich die flüssigen, bewahren wir in Glasflaschen mit Glasstöpsel auf.

Der Arbeitstisch, an welchem wir mikroskopiren, entspricht in seiner Höhe einem gewöhnlichen Schreibtische. Der Arbeitsstuhl soll so hoch sein, dass wir, auf demselben sitzend, bequem in das vertikal aufgestellte Mikroskop hineinsehen können. Die modernen besseren Mikroskope sind zwar sämmtlich mit Einrichtung zum „Umlegen“ versehen. Von dieser Einrichtung wird speciell für mikrophotographische Zwecke ein ausgedehnter Gebrauch gemacht. Hier stellt man den Tubus des Mikroskopes gewöhnlich horizontal.

Eine geringe Schrägstellung des Mikroskoptubus ist sehr angenehm für die Beobachtung; sie kann aber in der Regel nur dann zur Anwendung gelangen, wenn es sich um die Durchmusterung fertiger, fester Präparate handelt. Während des eigentlichen mikroskopischen Arbeitens, wo es sich stets um mehr oder weniger flüssige resp. verschiebliche Objecte handelt, wird man den Objecttisch stets in horizontaler, den Tubus also in vertikaler Stellung belassen müssen.

2. Beobachtung der Bakterien im lebenden Zustande. Der hängende Tropfen. Wirkungsweise des Abbe'schen Beleuchtungsapparates.

Wenn es sich darum handelt, irgend welche Bakterien zu untersuchen, so muss man sich zunächst, wenn es irgend ausführbar ist, ein Bild von dem Aussehen derselben im frischen, lebenden Zustande zu verschaffen suchen. Denn nur im lebenden Zustande kann man Aufschluss erhalten über die Frage, ob Eigenbewegung da ist oder nicht, nur im frischen Zustande kommen etwaige Unterschiede in dem Lichtbrechungsvermögen verschiedener Theile der Bakterienzelle zum Ausdruck, nur im frischen Zustande kann man über die Art der Zusammenlagerung der Bakterien in grösseren Verbänden (Zooglöen etc.) Genauestes erfahren. Ausgeschlossen ist freilich die Beobachtung lebender Bakterien in situ in Schnitten thierischer Organe. Wir werden weiterhin noch sehen, dass man zur Sichtbarmachung ungefärbter, in situ befindlicher Bakterien in Schnitten die letzteren so eingreifenden Manipulationen unterwerfen muss, dass von einem weiteren Fortbestande des Lebens der Bakterien dabei keine Rede sein kann. Will man die in thierischen Organen enthaltenen Bakterien lebend untersuchen, so muss man Theilchen der frischen Organe mit Wasser oder indifferenten Flüssigkeiten (0,75 proc. Kochsalzlösung, Bouillon) zerreiben, um dadurch die Bakterien, von den Körperzellen isolirt, in der Flüssigkeit suspendirt zu erhalten.

Die mikroskopische Beobachtung lebender Bakterien ist also auf bakterienhaltige Flüssigkeiten beschränkt, die entweder bereits fertig vorliegen, oder die man sich durch Verreiben bakterienhaltigen Materials in wässrigen Flüssigkeiten erst herstellt. Will man sich zunächst übungsweise mit diesen Dingen beschäftigen, so empfiehlt es sich, Scheiben gekochter Kartoffeln, welche in der weiter unten zu besprechenden Weise hergestellt sind, einige Stunden der Luft auszusetzen und dann in der feuchten Kammer einige Tage lang bei Zimmertemperatur stehen zu lassen. Es haben sich dann aus den

einzelnen Keimen, welche aus der Luft auf die Kartoffel nieder gefallen sind, Colonien von Bakterien entwickelt, welche als an Höhe, Flächenausdehnung, Farbe mehr oder weniger verschiedene Häufchen erscheinen. Ein jedes Häufchen zeigt sich dann aus Individuen einer bestimmten Art resp. Form zusammengesetzt. Durch Verrühren kleinster Quantitäten solcher Bakteriencolonien in einem Tröpfchen Wasser oder Aehnlichem lassen sich dann für die mikroskopische Beobachtung geeignete Objecte herstellen. Weiter empfiehlt es sich, etwas Heu, Reis, Erbsen, Brot, Fleisch oder Aehnliches mit Wasser zu versetzen und die resp. Infuse mehrere Tage lang an einem warmen Orte stehen zu lassen. Es entwickelt sich dann in den Infusen ein mehr oder weniger reiches Bakterienleben, und jedes Tröpfchen solcher Flüssigkeiten bietet ein ausgezeichnetes Object für das Studium von Bakterien im lebenden Zustande.

Die Methode, deren man sich zur mikroskopischen Untersuchung lebender, in Flüssigkeiten suspendirter Bakterien fast ausschliesslich bedient, ist die des hängenden Tropfens.

Um ein derartiges Präparat anzufertigen, nimmt man zunächst einen hohlgeschliffenen Objectträger, dessen Höhlung man mit gelbem Vaselin mittels eines Tuschpinsels umzieht, und den man dann vorläufig bei Seite legt. Nun wird ein reingeputztes (cf. p. 40) Deckglas horizontal auf den Tisch gelegt und mittels der Platinöse ein kleines Tröpfchen der bakterienhaltigen Flüssigkeit auf die Mitte des Deckglases gebracht; hat man keine bakterienhaltige Flüssigkeit, sondern mehr consistente Culturen oder frische Thierorgane etc. vor sich, so bringt man, wie oben bereits besprochen, zunächst ein Tröpfchen reines Wasser, Kochsalzlösung oder Bouillon mit der Platinöse auf das Deckglas und verreibt dann (am besten mittels eines gerade endenden Platindrahtes) in dem Tröpfchen eine Spur der Bakterienmasse resp. des Organs, um eine Suspension der Bakterien in der Flüssigkeit zu erhalten. Hierbei sehe man darauf, dass man möglichst wenig, wirklich nur Spuren der Bakterienmasse etc. in der Flüssigkeit vertheilt, weil es sonst sehr schwer, häufig unmöglich wird, die Individuen mikroskopisch isolirt zu Gesicht zu bekommen und sich von ihrer Form etc. ein Bild zu verschaffen.

Nachdem der Tropfen hergestellt ist, wird der hohlgeschliffene Objectträger, die Höhlung nach unten gekehrt, mittels des Vaselins so auf das Deckglas geklebt, dass das bakterienhaltige Tröpfchen genau in der Mitte des Ausschliffs liegt. Nun wird der Objectträger rasch (um ein Zerfliessen des Tröpfchens zu vermeiden) umgekehrt, und das Präparat ist dann zur Beobachtung fertig. Das Tröpfchen

hängt, zur Beobachtung bereit, vor Verdunstung geschützt, frei am Deckglase.

Die Platindrähte werden vor und nach jedesmaligem Gebrauche ausgeglüht; bevor man sie nach dem Ausglühen anwendet, muss man sie wieder erkalten lassen.

Um den hängenden Tropfen mikroskopisch zu untersuchen, verfährt man am besten so, dass man zunächst mit schwachem Objectivsystem den Rand des Tropfens aufsucht, um diesen Rand nachher der Beobachtung bei starker Vergrösserung zu unterwerfen. Sehr bequem und fast unentbehrlich hierfür ist die zum schnellen Wechseln der Objective bestimmte, oben (p. 38) erwähnte Revolvervorrichtung, welche den besseren Mikroskopen heutzutage als integrirender Bestandtheil stets beigegeben wird. Den Rand des Tropfens wählt man zur Untersuchung mit starken Vergrösserungen einestheils deshalb, weil der Tropfen am Rande am dünnsten ist, und sich Objecte, die eine möglichst dünne Schicht repräsentiren, zur Untersuchung mit stark vergrössernden Objectiven naturgemäss am besten eignen: anderntheils bietet der Rand des Tropfens wegen seiner Dünne den einzelnen Bakterienindividuen keinen so weiten Spielraum zum Durcheinanderschwirren etc. wie die übrigen Theile des Tropfens; man wird also am Rande die Formen, um die es sich handelt, gewöhnlich zum Theil in Ruhe liegen sehen, während man, nach der Mitte des Tropfens zu weitergehend, das Bakterienleben allmählich immer mehr in dem natürlichen, durch die Capillaritätsverhältnisse des Randes unbeeinflussten Lagerungs- und Bewegungszustande erblickt.

Dem Anfänger nicht geringe Schwierigkeiten verursacht nun das Einstellen des Präparates. Es handelt sich dabei um dreierlei verschiedene Dinge: erstens soll die richtige Stelle des Objectes zur Einstellung gelangen; zweitens soll das Bild des Objectes dem Auge scharf erscheinen, d. h. das Objectiv des Mikroskopes soll den richtigen Abstand vom Objecte haben; drittens soll die Beleuchtung des Objectes die richtige, zweckentsprechende sein.

Die ersten beiden Punkte sind relativ leicht zu erledigen. Man muss den mittleren Abstand der verschiedenen Objective vom Objecte ungefähr kennen; man stellt die Objectebene dann zunächst mit schwachem Objectiv unter Benutzung des groben Tubustriebes ein und rückt das Präparat dann mit der Hand so, dass die zu untersuchende Stelle, in unserem Falle also eine Stelle des Tropfenrandes, genau in die Mitte des Gesichtsfeldes kommt. Mit Vortheil wird man sich hierbei eines schwachen Oculars bedienen. Ist die richtige Stelle des Präparates centrisch eingestellt, so geht man mit dem Tubus unter

Benutzung des groben Triebes etwas nach oben, wechselt dann unter Benutzung des Revolvers das schwache System gegen das Immersionssystem um, bringt auf das Deckglas centrisch einen kleinen Tropfen Cedernöl und schraubt nun mit Hülfe des groben Triebes den Tubus so lange abwärts, bis die Frontlinse des Immersionssystemes in das Oel eintaucht. Dies letztere beobachtet man von der Seite her; man muss dazu die Augen etwa in Höhe des Objecttisches bringen. Ist die Oelverbindung zwischen Deckglas und Objectiv hergestellt, so schraubt man den Tubus wieder etwas in die Höhe, ohne jedoch die Oelverbindung zu zerreissen, und bringt nun das Auge wieder über das Ocular. Man schraubt nun (am besten, indem man beide Hände an die Schraube des groben Triebes bringt), während man in das Mikroskop hineinsieht, den Tubus ganz langsam und vorsichtig nach abwärts, bis das Bild erscheint; in diesem Augenblick lässt man den groben Trieb los und bewirkt nun die feinere Einstellung mit Hülfe der Mikrometerschraube.[1])

Die genannten Manipulationen, welche die richtige Einstellung des Präparates und des Objectives zum Zwecke haben, setzen jedoch eine richtige, zweckmässige Beleuchtung voraus. Ohne dass man die Beleuchtung, wenigstens annähernd, zunächst regulirt hat, sind diese Manipulationen z. Th. gar nicht ausführbar. Wir müssen uns deshalb mit der Beleuchtung etwas eingehender beschäftigen.

Der Beleuchtungskörper des modernen Mikroskopes besteht, wie bereits erwähnt, aus einem Spiegel, welcher die Strahlen der Lichtquelle auffängt, und aus einem Linsensystem (Abbe'scher Beleuchtungsapparat), in welches hinein die Strahlen von dem Spiegel aus geworfen werden, um schliesslich auf einer relativ kleinen Stelle des Objectes concentrirt zu werden. Es ist nun, wie uns Rob. Koch[2]) gelehrt hat, das erste Erforderniss zum Zustandekommen eines guten Bildes —

[1]) Von vornherein gewöhne man sich, das Auge, welches beim mikroskopischen Sehen unbetheiligt ist, während des Mikroskopirens offen zu halten. Nur ganz zu Anfang wird man durch das von diesem Auge percipirte Bild etwas gestört; bei einiger Uebung kommt Einem dieses Bild gar nicht mehr zum Bewusstsein. Es ist aber ein nicht hoch genug anzuschlagender Vortheil mit der Befolgung dieses Rathes verbunden. Beim mikroskopischen Sehen soll nämlich, damit das Auge von unnützer Anstrengung möglichst frei, das Arbeiten ein möglichst bequemes sei, die Accommodation völlig erschlafft sein, das Auge soll auf die Ferne eingestellt sein. Eine völlige Erschlaffung der Accommodation ist aber nur dann zu erreichen, wenn die gesammte Augenmuskulatur sich im Zustande der Ruhe befindet, wenn also auch der Schliessmuskel des anderen Auges ausser Thätigkeit ist.

[2]) Cohn's Beitr. zur Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1877. p. 410.

dies gilt für jeden einzelnen Fall, wie auch die Verhältnisse im Uebrigen liegen mögen —, dass die von der Lichtquelle ausgehenden Strahlen in der Objectebene vereinigt werden, d. h. dass ein möglichst scharfes Bild der Lichtquelle in der Objectebene entsteht. Wenn ich mit schwachem Systeme das Object scharf eingestellt habe, so muss ich also den Beleuchtungskörper meines Mikroskopes so disponiren, dass ich ausser dem körperlich vorhandenen Objecte noch das (reelle) durch den Beleuchtungskörper in das Object projicirte Bild der Lichtquelle erblicke. Ist die Lichtquelle vom Mikroskope weiter entfernt, wird sie z. B. durch weisse Wolken dargestellt, so liegt der Vereinigungspunkt ihrer Strahlen näher an der oberen Linse des Abbe'schen Apparates, als wenn die Lichtquelle näher am Mikroskope steht, z. B. durch die Flamme einer auf dem Tische stehenden Petroleumlampe [1]) repräsentirt wird. In dem ersteren Falle muss also der Abbe'sche Apparat höher, dem Präparate näher, im zweiten muss er tiefer, von dem Präparate weiter entfernt stehen. Diese Ueberlegung erweist die Nothwendigkeit, dass der Abbe'sche Apparat verschieblich sei. [2])

Es ist an dieser Stelle darauf aufmerksam zu machen, dass der Brennpunkt des Abbe'schen Apparates für parallel eintretende (d. h. z. B. von einer entfernten Wolke herkommende) Strahlen sehr nahe (in etwa 2 mm Entfernung) an seiner oberen Linse liegt. Damit die Strahlen aber wirklich parallel in den Abbe'schen Apparat eintreten, ist es nothwendig, dass wir die Strahlen der Wolke mit einem Planspiegel auffangen und sie dann in den Abbe'schen Apparat schicken. Das Mikroskop trägt nun in seiner Spiegelfassung gewöhnlich zwei Spiegel, nämlich einerseits einen Plan-, andrerseits einen Hohlspiegel. Würden wir den letzteren in unserem Falle anwenden, so würden wir dem Abbe'schen Apparate nicht parallele, sondern convergirende Strahlen zuschicken, und der Brennpunkt derselben würde naturgemäss

---

[1]) Als Lichtquelle benutzt man bei Tage am besten eine helle Stelle des Himmels (weisse Wolken etc.). Directes Sonnenlicht ist für die Zwecke der Beobachtung nie zu benutzen. Bei Abend benutzt man als Lichtquelle am besten eine gewöhnliche Petroleumlampe (Studirlampe). Ein auf die obere Ocularlinse gelegtes oder im Blendungsträger angebrachtes schwach blaues (Cobalt-) Glas dämpft die gelben Strahlen der Flamme und erleichtert das Mikroskopiren bei Lampenlicht sehr.

[2]) Im Nothfalle kann das Abbe'sche Beleuchtungssystem durch eine unter der Tischöffnung angebrachte halbkuglige Linse, deren plane Seite nach oben gekehrt ist, und die, in einer Hülse gefasst, auf- und abwärts verschiebbar ist, ersetzt werden.

dann noch viel näher an der oberen Linse des Abbe'schen Apparates liegen, d. h. so nahe, dass an ein Zusammenfallen dieses Brennpunktes mit der Objectebene — da doch unsere Objectträger eine gewisse Dicke haben müssen — nicht mehr zu denken wäre. Es ergiebt sich aus dieser Betrachtung ohne Weiteres die Nothwendigkeit, bei Benutzung des Abbe'schen Beleuchtungsapparates stets den Planspiegel, nie den Concavspiegel anzuwenden.

Die Beleuchtung ist also, wenn wir zunächst mit schwachem Objective das Präparat betrachten, so einzurichten, dass wir den Planspiegel benutzen und den Abbe'schen Apparat in eine solche Höhe bringen, dass wir mit dem Bilde des scharf eingestellten Objectes zugleich ein möglichst scharfes Bild der Lichtquelle erblicken.

Nun bleibt aber noch ein sehr wesentlicher Punkt bezüglich der Beleuchtung zu berücksichtigen, d. i. die richtige Disponirung der unterhalb des Abbe'schen Condensorsystems, zwischen diesem und dem Beleuchtungsspiegel, befindlichen Blendungsvorrichtung.

Wenden wir den Abbe'schen Apparat ohne jede Abblendung an („offener Condensor"), so kommt die ganze Menge der in die untere Linse desselben eintretenden Lichtstrahlen zur Wirkung auf das Object. Die kleine Stelle des Objectes, in welcher sich diese Lichtstrahlen vereinigen, wird dann mit Licht überschüttet, welches von allen einzelnen Punkten der obersten Linsenfläche des Abbe'schen Apparates herkommt. Da nun diese Linsenfläche eine ziemliche Ausdehnung hat und dem Vereinigungspunkte der von ihr ausgehenden Strahlen sehr nahe liegt, so besitzt der in das Object gelangende Strahlenkegel einen sehr stumpfwinkligen Scheitel. Die Randstrahlen dieses Kegels sind also den ihnen gegenüberliegenden Randstrahlen nahezu entgegengesetzt gerichtet und paralysiren dieselben in ihren Diffractionswirkungen nahezu vollständig. Handelt es sich nun um die Darstellung solcher Objecttheile, die sich nur durch Differenzen in dem Lichtbrechungsvermögen, nicht durch Differenzen in der Färbung von ihrer Umgebung unterscheiden, die also überhaupt nur durch Diffractionserscheinungen, welche an ihren Grenzen zu Stande kommen, sichtbar werden können, so ist naturgemäss der volle, unabgeblendete Abbe'sche Condensor nicht am Platze. Derselbe verhindert das Zustandekommen der Diffractionserscheinungen, d. h. er macht die ungefärbten Objecte mehr oder weniger unsichtbar. Wollten wir uns dagegen solche Objecttheile vor Augen führen, die sich durch die Färbung von ihrer Umgebung unterscheiden, so würden diese gefärbten Dinge, die für ihre Sichtbarkeit irgend welcher Diffractionserscheinungen nicht bedürfen, bei der geschilderten Beleuchtung in

Folge der gleichzeitigen Auslöschung der Contouren der ungefärbten Objecttheile ganz besonders deutlich, isolirt zur Erscheinung gelangen.

Der Erste, welcher diese Verhältnisse erkannt, scharf definirt und für die Zwecke der practischen Mikroskopie brauchbar gemacht hat, war Rob. Koch.[1]) Die Beleuchtung mit vollem Abbe'schen Condensor vernichtet das „Structurbild", isolirt das „Farbenbild". Diese Beleuchtung wird also überall da am Platze sein, wo es sich um Darstellung gefärbter Theile des Objectes gegenüber ungefärbten handelt, z. B. bei der mikroskopischen Darstellung von gefärbten Bakterien, die in Schnitten thierischer Organe enthalten sind. Hier werden wir den vollen Abbe'schen Condensor, zumal wenn es sich um relativ (d. h. gegenüber den Gewebszellen) sehr kleine Bakterien handelt, nicht entbehren können; denn allein diese Beleuchtung löscht die Contouren der ungefärbten Gewebstheile (die, wenn sie sichtbar sind, kleine gefärbte Bakterien sehr gut verdecken können) aus und lässt die gefärbten Theile dafür desto deutlicher hervortreten.

Wollen wir aber ungefärbte Objecte oder Objecttheile zur Anschauung bringen, so dürfen wir den vollen Abbe'schen Condensor nicht anwenden. Wir bringen dann ein Diaphragma mit ziemlich enger centraler Oeffnung (gewöhnlich einfach „enge Blende" genannt) unter den Abbe'schen Beleuchtungsapparat. Es werden so die Randstrahlen abgeblendet, und es kommt dann auf das Object nur eine relativ kleine Menge centraler Lichtstrahlen, ein sehr spitzwinkliger Strahlenkegel, zur Wirkung; dieser unterscheidet sich in seiner Wirkung nicht wesentlich von einem Bündel paralleler Lichtstrahlen und lässt die Contouren ungefärbter Objecttheile deutlich zur Anschauung kommen.

Kehren wir nun zu unserem hängenden Tropfen zurück, so haben wir hier eine Flüssigkeit (Wasser etc.) vor uns, in welcher Bakterien suspendirt sind. Die Flüssigkeit sowohl wie die Bakterien sind ungefärbt. Die Darstellung der letzteren erfordert es also, die Beleuchtungsverhältnisse so einzurichten, wie sie zur Sichtbarmachung des „Structurbildes" nothwendig sind; d. h. wir dürfen bei der Beobachtung des hängenden Tropfens nicht den vollen Abbe'schen Condensor anwenden, sondern müssen denselben durch eine enge Blende abblenden.

Das Verfahren der mikroskopischen Einstellung des hängenden Tropfens würde sich also folgendermassen gestalten:

---

[1]) Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig. 1878. p. 32 ff.

1) Abblendung des Condensors mit enger Blende.

2) Scharfe, centrale Einstellung des Tropfenrandes mit schwachem System und Planspiegel.

3) Regulirung der Stellung des Abbe'schen Apparates (Einstellung des Bildes der Lichtquelle in die Objectebene).

4) Centrirung des Bildes der Lichtquelle durch Regulirung der Spiegelstellung.

5) Hochschrauben des Tubus und Auswechseln des schwachen Systems gegen das Immersionssystem.

6) Bringen eines Tropfens Cedernöl central auf das Deckglas.

7) Vorsichtiges Niederschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes bis zum Eintauchen des Systems in das Oel. Zurückschrauben des Tubus, ohne die Oelverbindung zu zerreissen.

8) Vorsichtiges, langsames Niederschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes bis zum Erscheinen des Bildes im Mikroskope.

9) Loslassen des groben Triebes und letzte Regulirung der Einstellung durch die Mikrometerschraube.

10) Sollte das Gesichtsfeld sich nicht an allen Stellen gleichmässig beleuchtet zeigen, so kann man diesen Fehler durch minimale Verstellung des Spiegels ohne Weiteres beseitigen.

Es möge hier ein für alle Mal darauf hingewiesen werden, dass man sich bei der mikroskopischen Betrachtung eines jeden Objectes — besonders wenn starke Objective zur Verwendung kommen — zunächst stets eines möglichst schwachen Oculars bedient. Das schwache Ocular hat dem starken gegenüber eine grosse Menge Vortheile: Das Bild ist lichtstärker und schärfer; die Schärfe wird weniger von geringen Verschiebungen der Mikrometerschraube beeinflusst; das Gesichtsfeld umfasst einen grösseren Theil des Objects; alles in allem: das Arbeiten mit schwachem Ocular ist leichter, angenehmer und bequemer als mit starkem. Speciell auch das Durchmustern eines Präparates ist bei Anwendung eines schwachen Oculars erheblich leichter. Es ist also eine feststehende Regel, dass man zunächst immer das schwache Ocular benutzt. Stösst man dann auf eine Stelle, die man bei stärkerer Vergrösserung betrachten möchte, so wechselt man die Oculare aus, greift aber sofort wieder auf das schwache Ocular zurück, wenn man weitere Theile des Präparates betrachten will.

3. Das gefärbte Deckglas-Trockenpräparat. Die Anilinfarben. Das Princip der maximalen Beleuchtung.

Haben wir uns durch die Untersuchung des hängenden Tropfens über das Aussehen eines Bakteriengemisches im lebenden Zustande informirt, haben wir uns, wenn es sich um eine bestimmte Bakterienart handelt, durch die genannte Methode von eventuell bestehender Eigenbewegung etc. überzeugt, so gehen wir daran, uns ein Dauerpräparat für unsere Sammlung anzufertigen. Ein solches Dauerpräparat hat aber nicht nur den Zweck, eine dauernde Erinnerung an resp. einen dauernden Beleg für einen bestimmten Befund zu bilden oder als unveränderliches Demonstrationsobject zu dienen. Wir sind vielmehr für manche Zwecke direct gezwungen, uns ein solches Präparat anzufertigen. Wenn wir z. B. Bakterien photographisch abbilden wollen, so müssen wir sie (in der Regel) aus dem beweglichen Zustande, in welchem sie im hängenden Tropfen vorhanden sind, in einen fixirten Zustand überführen, sie dauernd festlegen. Wenn wir feststellen wollen, ob ein Sputum Tuberkelbacillen enthält oder nicht, so bedürfen wir hierzu eines Verfahrens, in welchem die dauernde Fixirung des Untersuchungsobjectes einen wesentlichen Punkt bildet.

Die Methode, welche wir anwenden, um bakterienhaltige resp. auf Bakterien zu untersuchende Flüssigkeiten in die Form des Dauerpräparates zu bringen, stammt von R. Koch.[1]) Koch fand, dass Bakterien, die in dünner Schicht am Deckglase angetrocknet werden, in ihren Formen sehr gut erhalten bleiben und sich dann, am Deckglase fixirt, ausgezeichnet conserviren lassen. Zur Herstellung eines solchen „Trockenpräparates" taucht man den eben ausgeglühten und wieder erkalteten Platindraht mit der Spitze in die bakterienhaltige resp. zu untersuchende Flüssigkeit (Blut, Eiter, Sputum, Gewebssaft, bakterienhaltiges Pflanzeninfus, Faulflüssigkeit etc.) ein und streicht das am Drahte hängen gebliebene Material in möglichst dünner Schicht auf einem rein geputzten Deckglase aus. Es empfiehlt sich hierbei, nicht nur die wirkliche Spitze des Drahtes zum Ausstreichen zu benutzen, sondern das Ende des Drahtes in Länge von etwa 1 cm flach auf das Deckglas aufzulegen und dieses letzte Stück des Drahtes in seiner ganzen Ausdehnung zum (quer gerichteten) Ausstreichen der Flüssigkeit zu verwenden. Haben wir consistenteres Material zu

---

[1]) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1877. p. 401 ff. — Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 5.

untersuchen, z. B. Colonien von der Kartoffel etc., so müssen wir dieses Material, ähnlich wie dies auch bei der Herstellung des hängenden Tropfens geschah, zunächst in flüssige Form bringen. Wir bringen zu dem Zwecke zunächst (mit Hülfe des Platindrahtes) ein kleinstes Tröpfchen reines Wasser auf das Deckglas und verreiben nachher in diesem Wasser und mit demselben ein kleinstes Partikelchen des zu untersuchenden Materials, indem wir für möglichste Flächenausbreitung desselben in möglichst dünner Schicht Sorge tragen.[1])

Ist das Material auf dem Deckglase vertheilt, so kommt der zweite Act des Verfahrens: das Trocknen des vertheilten Materials. Dasselbe soll bei gewöhnlicher Temperatur an der Luft geschehen, nicht unter Erhitzung in der Flamme.[2]) Gewöhnlich sind nur Bruchtheile einer Minute dazu erforderlich, das Präparat „lufttrocken" werden zu lassen.

Ist das Präparat lufttrocken geworden, so kommt Punkt 3 an die Reihe; das Fixiren der Schicht. Wir wollen nämlich die Bakterienschicht hinterher färben; zum Zwecke der Färbung muss aber die Schicht mit wässerigen Farbstofflösungen und dann mit Wasser bespült werden; und dabei werden, wenn man nicht besonders für eine Fixirung der Schicht gesorgt hat, sehr häufig — es braucht dies nicht immer zu geschehen, geschieht aber oft — Theile dieser Schicht heruntergespült. Um das zu vermeiden, wird die Schicht durch Erhitzung fixirt, d. h. es werden die schleimigen Hüllen der Bakterien, vermöge deren dieselben am Glase festgeklebt sind, in Wasser weniger quellbar gemacht, so dass die Bakterien nun fester am Glase haften. Koch führte diese Erhitzung ein nach dem Vorgange von Ehrlich[3]), welcher dieselbe speciell für Blutpräparate als ein zweckmässiges Fixirungsmittel gefunden hatte. Man kann zum Zwecke der Fixirung die Deckgläser 2—10 Minuten in einen auf 120—130° C. erwärmten Trockenschrank bringen. Es genügt jedoch für die allermeisten Fälle eine viel einfachere Methode: Das mit der Pincette gefasste, horizontal gehaltene Deckglas wird, mit der Schicht nach oben gekehrt, dreimal hintereinander durch die nicht leuchtende Flamme des Bunsen'schen

---

[1]) Wenn wir wässeriges Material vor uns haben, so gelingt eine gleichmässige Ausbreitung nur dann, wenn das Deckglas vollkommen rein ist. Das Letztere wird am schnellsten und besten durch starkes Erhitzen des Gläschens in der Flamme erreicht (cf. p. 40, Anm. 1).

[2]) Eine ganz leichte Erwärmung zum Beschleunigen des Trocknens ist gestattet. Man darf das Präparat z. B. in der erwärmten Luft, welche sich etwa 60 cm über der Flamme des Bunsenbrenners befindet, trocknen.

[3]) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 1. 1880.

Gasbrenners oder durch eine kräftige Spiritusflamme gezogen. Man beschreibt dabei mit der Hand unter stetiger Bewegung dreimal einen vertikal gestellten Kreis, der einen Fuss im Durchmesser hat, und den die Hand jedesmal in einer Sekunde zurücklegt. Diese genaue Angabe der Geschwindigkeit der Bewegung stammt von Johne[1]), welcher dieselbe in seinen Erinnerungen an die ersten „Choleracurse“ im Koch'schen Institute aufgezeichnet hat.

Man könnte versucht sein, eine derartig genaue Vorschrift für die Schnelligkeit, mit der man das Deckglas durch die Flamme zu ziehen hat, für überflüssig zu halten. Dieselbe ist jedoch nichts weniger als überflüssig. Erhitzt man das Präparat bei dem „Fixiren“ zu stark, so büssen die Bakterien an ihrer Fähigkeit, Farbstoffe aufzunehmen, ein, und zwar um so mehr, je weiter die Erhitzung gegangen ist. Vor allem hat man sich vor einem, wenn auch noch so kurzen, Verweilen des Präparates in der Flamme zu hüten. Die Bewegung soll stetig sein; nur ganz vorübergehend soll die höhere Temperatur einwirken. Steht man einen Moment in der Flamme still, so ist die weitere Brauchbarkeit des Präparates verscherzt. Auf der anderen Seite soll aber das Präparat wirklich „fixirt“ werden; und dazu gehört ein bestimmter Grad der Erhitzung. Man hat also bei dieser Manipulation eine gewisse (für verschiedene Untersuchungsobjecte übrigens etwas verschiedene) Mittelstrasse einzuhalten, die durch die obige Angabe im Allgemeinen ziemlich genau bestimmt wird.

Ist das Trockenpräparat fixirt, so ist es zur Färbung fertig. Die Färbung wird auf die Weise ausgeführt, dass man eine geeignete Farblösung auf die angetrocknete Schicht bringt und den Ueberschuss der Farblösung nach kürzerer oder längerer Zeit mit geeigneten Flüssigkeiten (meist Wasser) herunterspült.[2]) Vor der Färbung kann man das Trockenpräparat durch kürzeres oder längeres Eintauchen in eine Sublimatlösung desinficiren; man wird dies z. B. dann thun, wenn Einem daran liegt, pathogenes Material möglichst bald unschädlich zu machen. Die Länge der Einwirkung der Sublimatlösung, welche dazu nothwendig ist, variirt je nach der Beschaffenheit des zu desinficirenden Materiales. Die Färbbarkeit der Bakterienzellen wird nach meinen Erfahrungen auch durch stundenlange Einwirkung der ge-

[1]) Ueber die Koch'schen Reinculturen und die Cholerabacillen. Leipzig. 1885. p. 19.

[2]) Die Färbung des Präparates braucht nicht sofort nach der Antrocknung und Fixirung des Materials zu geschehen; man kann das fixirte Präparat, vor Feuchtigkeit geschützt, vor der Färbung beliebig lange aufbewahren.

bräuchlichen Salzsäuresublimatlösung (1 Sublimat, 5 Salzsäure, 1000 Wasser) nicht verändert.[1])

Als Farbstoffe verwendet man zur Bakterienfärbung fast ausschliesslich gewisse Anilinfarben. Es ist zwar richtig, dass sich Bakterien auch mit anderen Farbstoffen, z. B. Haematoxylin, Carmin, tingiren lassen; jedoch ist die Intensität solcher Färbungen mit den durch Anilinfarben hervorgebrachten nicht zu vergleichen. Der Erste, welcher Anilinfarben zum Färben von Bakterien verwendete, war Weigert.[2])

Es ist hier der Ort, einige Bemerkungen über das Wesen der Anilinfarben im Allgemeinen und über ihre Verwendbarkeit in der mikroskopischen Technik zu machen. Die Anilinfarben leiten sich in letzter Linie ab von den beiden Körpern Anilin und Toluidin, welche ihrerseits aus den beiden (in dem Steinkohlentheer enthaltenen) Kohlenwasserstoffen Benzol resp. Toluol durch Eintritt einer NH_2-Gruppe (Amidogruppe) an Stelle eines Wasserstoffatoms in den Benzolkern entstanden sind. Aus dem Anilin oder dem Toluidin oder aus beiden zusammen lassen sich nun solche Körper herleiten, welche basische, und solche, die saure Eigenschaften haben. Und man kann die Anilinfarben als Salze auffassen, welche entweder dadurch entstehen, dass sich ein solcher basischer Körper mit irgend einer Säure verbindet, oder dadurch, dass einer der sauren Abkömmlinge mit irgend einem basischen Körper eine Verbindung eingeht. In dem ersteren Falle ist das färbende Princip des entstehenden Salzes offenbar basischer Natur, während in dem letzteren Falle der saure Bestandtheil des Salzes den färbenden Antheil darstellt. Ehrlich[3]) unterscheidet so „basische" Anilinfarbstoffe und „saure" Anilinfarbstoffe.

Es hat sich nun gezeigt, dass in der Wirkungsweise dieser beiden Gruppen sehr erhebliche Unterschiede bestehen. Bringt man beispielsweise von zwei gleichen Schnitten thierischen Gewebes den einen in eine Farbflüssigkeit, welche mit einem basischen Anilinfarbstoffe hergestellt ist, den anderen in die Lösung eines sauren Anilinfarbstoffes, so findet man in der Färbung der nach weiterer zweckmässiger Behandlung resultirenden Präparate die erheblichsten Differenzen. Der saure Farbstoff hat das Gewebe diffus, in allen seinen Theilen

---

[1]) Es möge hier bemerkt werden, dass, obgleich manchen Anilinfarben eine hohe bakterienschädigende Wirkung zukommt, doch nicht etwa jede Bakterienzelle durch die Aufnahme von Farbstoff abgetödtet wird.

[2]) Ueber eine Mykose bei einem neugeborenen Kinde. — Schles. Gesellsch. f. vaterl. Cultur. Breslau. 10. Dec. 1875. (Jahresbericht, p. 229).

[3]) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 1 1880. p. 556.

gleichmässig gefärbt; der basische Farbstoff hat vor allem die Kerne des Gewebes gefärbt, die anderen Bestandtheile haben weniger Farbstoff aufgenommen. Die basischen Anilinfarbstoffe sind also durch eine besondere Affinität zu den Kernen des thierischen Gewebes ausgezeichnet, und man bezeichnet sie daher auch als kernfärbende Anilinfarbstoffe, während man die sauren auch als diffus färbende bezeichnet.

Die am häufigsten angewandten basischen (kernfärbenden) Anilinfarbstoffe sind:

Fuchsin (rother Farbstoff).
Gentianaviolett, Methylviolett.
Methylenblau.
Bismarckbraun.

Zu den sauren (diffus färbenden) Anilinfarbstoffen gehören unter Anderem Eosin, Pikrinsäure.

Die Kerne des thierischen Gewebes und die Protoplasmakörper der Bakterienzellen zeigen nun gewisse Analogien in ihren Eigenschaften, die unter Anderem auch in dem Verhalten der beiderseitigen Dinge gegen Farbstoffe zum Ausdrucke kommen. So wie die Gewebskerne durch eine besondere Affinität zu den basischen Anilinfarbstoffen ausgezeichnet sind, so sind dies auch die Bakterien. Wir brauchen deshalb zur Bakterienfärbung ausschliesslich die basischen (kernfärbenden) Anilinfarbstoffe.

Zur Herstellung der Färbungsflüssigkeiten verfährt man, je nach dem Farbstoff, den man verwenden will, verschieden. Bei den beiden Violetten, dem Fuchsin, dem Methylenblau empfiehlt es sich, concentrirte Lösungen in absolutem Alcohol (welcher das ausgezeichnetste Lösungsmittel für diese Farbstoffe ist) anzustellen, die als Stammflüssigkeiten dienen, zum Färben jedoch an sich nicht verwendet werden können. Diese concentrirten alcoholischen Lösungen werden dann zum Gebrauche mit etwa dem zehnfachen Volumen Wasser verdünnt. Die schliesslich anzuwendenden Farblösungen müssen stets wässerige sein resp. einen hervorragenden Wassergehalt besitzen. Der Grund, weshalb man nicht die unmittelbar gebrauchsfähigen wasserhaltigen Farblösungen von vornherein in grösseren Quantitäten anstellt, ist der, dass die mit Wasser versetzten Lösungen gewöhnlich nur eine beschränkte Haltbarkeit besitzen. Eine nach obiger Vorschrift durch Vermischen der concentrirten alcoholischen Lösung mit der zehnfachen Wassermenge hergestellte Violett- oder Fuchsinlösung wirkt, frisch bereitet, ausserordentlich schön; bald jedoch, spätestens nach mehreren Wochen,

neigen diese Flüssigkeiten dazu, Niederschläge ausfallen zu lassen; sie färben dann weniger intensiv und bedecken das Präparat gern mit grösseren oder kleineren, mitunter sehr dicht gesäeten Fleckchen, welche als „Farbstoffniederschläge" bekannt sind und das Präparat häufig unbrauchbar machen. Dies gilt für die violetten und die Fuchsinlösungen. Den Methylenblaulösungen kommt etwas derartiges nicht zu. Methylenblaulösungen sind unbeschränkt haltbar.

Wir werden also, wenn wir Bakterien violett oder fuchsinroth färben wollen, uns im Allgemeinen frisch bereiteter, durch Vermischen concentrirter alcoholischer Stammlösungen mit Wasser hergestellter Farblösungen bedienen. Was noch das Bismarckbraun im Speciellen angeht, so empfiehlt es sich, diesen Farbstoff in concentrirter Lösung in einem Gemisch von Wasser und Glycerin zu gleichen Theilen anzuwenden.[1])

In der Wirkungsweise der verschiedenen genannten Farbstoffe auf die Präparate sind übrigens ganz bestimmte Unterschiede vorhanden. Das Bismarckbraun, welches früher, namentlich für die Zwecke der Mikrophotographie, unentbehrlich war, wird jetzt (wenigstens für Deckglastrockenpräparate) nur verhältnissmässig wenig noch angewendet, weil wir einerseits gelernt haben auch anders als braun gefärbte Bakterien zu photographiren, und weil das Bismarckbraun manche Bakterienarten (wie z. B. die Tuberkelbacillen) schlecht oder gar nicht färbt. Am intensivsten färben und von ganz allgemeiner Anwendbarkeit für alle Bakterienarten sind die violetten Farbstoffe und das Fuchsin. Das Methylenblau[2]) färbt zarter und lässt in dem Bakterienleibe oft noch feine Differenzen des Inhalts nach der Färbung erkennen, die bei Anwendung der Violette oder des Fuchsins vollständig verschwinden, in der Totalfärbung des Bakterienkörpers untergehen. Für Trockenpräparate von eiweisshaltigem Material (Blut, Eiter etc.), welches auf Bakterien untersucht werden soll, empfiehlt sich vor Allem die Methylenblaufärbung, weil bei dieser das Plasma des Blutes, Eiters etc. viel weniger gefärbt wird, als wenn Fuchsin oder Violett zur Verwendung gelangt, und weil somit die Bakterien, Leukocyten etc. viel besser zur Darstellung kommen.

---

[1]) R. Koch. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1877. p. 406.

[2]) In Trockenpräparaten, welche mit Methylenblau gefärbt sind, findet man häufig einzelne Dinge röthlich gefärbt, während andere eine rein blaue Farbe angenommen haben. In Ausstrichpräparaten der Milz von Milzbrandmäusen, die mit Methylenblau behandelt wurden, habe ich häufig die Milzbrandbacillen röthlich, die Kerne der Leukocyten rein blau gefärbt angetroffen.

Kehren wir nun zu unserem Deckglas-Trockenpräparate zurück, welches wir, zur Färbung bereit, verlassen hatten. Wir fassen das Präparat mit einer kleinen, in der linken Hand gehaltenen Pincette so in horizontaler Lage, dass die angetrocknete Schicht nach oben sieht; wir bringen dann einige Tropfen wässeriger Farblösung auf diese Schicht (am besten mit Hülfe einer kleinen Pipette, welche aus der die Farblösung enthaltenden Flasche heraussieht), wir lassen die Farblösung einige Secunden einwirken und spülen dann mit Wasser den Ueberschuss ab.[1]) Die Schicht muss sich dann gefärbt zeigen. Mit Hülfe eines Glasrohres oder auch ohne ein solches blasen wir dann das überschüssige Wasser von der gefärbten Schicht herunter, wischen die andere Deckglasseite mit einem Leinwandläppchen oder mit Fliesspapier trocken, ziehen eventuell das Deckglas mit nach oben gerichteter Schicht noch einige Male durch die Flamme, um es vollständig zu trocknen, und sind nun mit der Färbung fertig.

Nach der Färbung wird das Präparat auf den Objectträger aufgekittet (zur Conservirung „eingeschlossen"). Wir verwenden zu diesem Zwecke fast ausschliesslich Canadabalsam.[2]) Der Canadabalsam ist ein von bestimmten Coniferen stammendes terpentinähnliches Harz, welches in äusserst zähflüssigem Zustande im Handel erscheint und für unsere Zwecke erst verdünnt werden muss. Die Verdünnung wurde früher hauptsächlich mit Terpentinöl oder mit Chloroform bewirkt. Es hat sich aber gezeigt, dass diese beiden Körper sich gegen gefärbte Objecte, namentlich gegen mit Anilinfarben gefärbte Bakterien, durchaus nicht gleichgültig verhalten. Sie wirken allmählich entfärbend. Als durchaus indifferenter Körper hat sich jedoch in dieser Hinsicht das Xylol erwiesen, und dieses würde ich deshalb ganz allein zur Verdünnung des Balsams empfehlen. Das Xylol, ein Dimethylbenzol, ist eine leicht bewegliche, in ihrem Geruche zwischen Benzol und Bittermandelöl stehende Flüssigkeit, die, ohne Rückstand zu hinterlassen, verdunstet. Zum Verdünnen des Balsams nimmt man die Hälfte seines Volumens bis zum gleichen Volumen Xylol je nach dem Zwecke, dem der verdünnte Balsam dienen soll. Für Deckglas-

[1]) Hierbei hat man darauf zu achten, dass auch die etwa zwischen den Pincettenbranchen angesammelte Farbflüssigkeit durch Ausspülen der Branchen entfernt werde.

[2]) Nur selten werden andere Einschlussmittel verwandt. Mit Bismarckbraun gefärbte Präparate können auch in Glycerin, violett- oder fuchsingefärbte Präparate können auch in essigsaurem Kali (1 Theil auf 2 Theile Wasser) conservirt werden (R. Koch).

trockenpräparate braucht man einen dünneren, zum Conserviren von Schnitten einen dickeren „Xylol-Balsam“.

Das Aufkitten des Trockenpräparates mit dem Xylol-Balsam auf den Objectträger (oder das „Einschliessen“ des Präparates) wird so ausgeführt, dass man auf die Mitte des reingeputzten Objectträgers ein kleines Tröpfchen des Balsams[1]) bringt und dann, vorsichtig und langsam, das Deckglas, mit der gefärbten Schicht nach unten, mit einer feinen Pincette gefasst, mitten auf den Objectträger, d. h. auf das Balsamtröpfchen legt. Benutzt man zu der letzteren Manipulation nicht die Pincette, sondern nur die Finger, so ist man genöthigt, im letzten Moment das Deckglas fallen zu lassen: und es kommt dann häufig zur Bildung kleiner Blasen innerhalb des Balsams, welche unter Umständen geeignet sind, die Beobachtung des Präparates zu stören. Unter dem Deckglase breitet sich der Balsam je nach seiner Consistenz rascher oder langsamer aus und bildet schliesslich eine Verbindung des Deckglases in seiner ganzen Ausdehnung mit dem Objectträger. Man hüte sich übrigens, zu viel des Balsams auf den Objectträger zu bringen. Begeht man diesen Fehler, so quillt der Balsam unter den Rändern des Deckglases hervor, kommt dann bei der nachherigen mikroskopischen Betrachtung eventuell mit dem Oel des Immersionssystems zusammen, vermischt sich mit demselben, verändert den Brechungsexponenten der Immersionsflüssigkeit, und man muss sich dann der Mühe unterziehen, das Immersionssystem sowohl wie die Oberfläche des Deckglases sauber (am besten mit Benzol oder Xylol) abzuputzen, den überflüssigen Balsam zu entfernen, und kann dann die Beobachtung von Neuem beginnen. Ein weiterer Verschluss des aufgekitteten Präparates ist nicht nothwendig. Innerhalb weniger Tage ist der Balsam ziemlich fest, innerhalb einer Reihe von Wochen an den Rändern steinhart, und das Präparat ist dann ein echtes, wirkliches Dauerpräparat. Die Färbung hält

---

[1]) Der Balsam wird am besten in den (p. 40) beschriebenen kleinen weithalsigen Fläschchen mit aufgeschliffener übergreifender Kappe aufbewahrt. In dem Fläschchen steht permanent ein dünnes Glasstäbchen mit rund verschmolzenen Enden, welches nach Abhebung der Kappe aus dem Fläschchen heraussieht, und mit Hülfe dessen der Tropfen Balsam herausgehoben wird. Ganz unbrauchbar sind die (für andere Reagentien ganz brauchbaren) sogenannten Cobaltflaschen für unseren Zweck; diese ähneln den beschriebenen Flaschen, unterscheiden sich von denselben aber dadurch, dass der Glasstab durch einen eingeschliffenen, nach unten in die Flasche hinein verlängerten Stopfen ersetzt ist. Man wird diese Gefässe nach kurzem Gebrauche verwerfen; denn es ist bei ihnen nicht zu vermeiden, dass der Balsam über den Flaschenrand herausquillt und die Aussenwand des Gefässes, den Tisch etc. beschmutzt und verschmiert.

sich, wenn man die Präparate im Dunkeln aufbewahrt, dauernd unverändert.

Es ist selbstverständlich, dass man unmittelbar nach der Herstellung des Präparates dasselbe mit einer genauen Bezeichnung (am besten wird dieselbe auf einem aufgeklebten Etikett angebracht) versieht, welche die näheren Daten über die Herstammung des Materiales und namentlich auch Datum und Jahreszahl der Herstellung angiebt.

Will man übrigens ein Trockenpräparat, welches vor längerer Zeit gefärbt und in Canadabalsam eingeschlossen wurde, wieder von dem Objectträger herunternehmen, z. B. um es auf einen anderen Objectträger aufzukitten oder es mit einer anderen Farbe zu färben (es „umzufärben") etc., so braucht man nur den Objectträger von unten her über der Flamme leicht (nicht zu stark)[1]) zu erwärmen. Der Balsam wird sofort wieder etwas flüssiger, und man kann dann mit einem kleinen Hölzchen oder Aehnlichem das Deckglas von dem Objectträger herunterschieben und es ohne Weiteres mit einem neuen Tröpfchen Balsam auf einen anderen Objectträger aufkitten. Beabsichtigt man eine Umfärbung, so wird das herunter geschobene Deckglas in Xylol, das man zweckmässiger Weise mehrmals erneuert, gebracht, bis der Balsam vollkommen heruntergelöst ist. Dann kommt das Deckglas in absoluten Alcohol zur Entfernung des Xylols, dann in eine der weiter unten zu besprechenden Entfärbungsflüssigkeiten, wird nach erfolgter Entfärbung in Wasser abgespült und kann nun mit beliebiger Farblösung wieder gefärbt, dann abgespült, getrocknet und wieder aufgekittet werden.

Nach dieser Abschweifung wollen wir uns unserem Trockenpräparate wieder zuwenden, welches wir gefärbt, in Balsam eingeschlossen und damit zur Beobachtung fertig gemacht hatten. Während wir zur mikroskopischen Betrachtung des hängenden Tropfens aus genauer erörterten Gründen darauf angewiesen waren, uns zunächst eine bestimmte Stelle des Präparates (nämlich den Rand des Tropfens) aufzusuchen, um diese zu untersuchen, haben wir es zum Zwecke der genaueren mikroskopischen Prüfung des gefärbten Trockenpräparates nicht nöthig, eine solche bestimmte Stelle aufzusuchen. Das Trockenpräparat stellt ein sehr dünnes, in horizontaler Ebene ausgebreitetes Object dar, dessen einzelne Theile mehr oder weniger gleichwerthig

---

[1]) Es sei hier bemerkt, dass in Balsam eingeschlossene Bakterienpräparate, die stark (etwa bis zu beginnender Blasenbildung des Balsams) erhitzt werden, die Färbung hierbei verlieren.

sind, und es ist deshalb gleichgültig, welche Stelle des Deckgläschens wir zunächst unter die Linse bringen, falls nur überhaupt an dieser Stelle Theile der gefärbten Schicht vorhanden sind. Gewöhnlich legt man deshalb das Präparat so auf den Objecttisch, dass die obere Linse des Abbe'schen Apparates und das Deckglas concentrisch über einander liegen, dass also die optische Axe des Mikroskopes durch die Mitte des Deckgläschens geht. Dann wird ein Tröpfchen Cedernöl auf die Mitte des Deckgläschens gebracht und, ohne dass erst eine Beobachtung mit schwachem System erfolgt, das Immersionssystem in der oben (p. 45) beschriebenen Weise unter Benutzung des groben Tubustriebes in das Oel hineingesenkt. Nachdem die Berührung der Linse mit dem Oel erfolgt ist, wird, wie dies bei der Einstellung des hängenden Tropfens geschah, der Tubus wieder etwas in die Höhe geschraubt, ohne dass die Oelverbindung dabei auseinanderreisst. Dann bringt man das Auge über das Ocular und regulirt nun zunächst provisorisch die Spiegelstellung so, dass das Gesichtsfeld, in welchem zunächst ein Bild noch nicht sichtbar ist, überhaupt nur eine gewisse Helligkeit zeigt. Dann wird durch vorsichtiges und langsames Herunterschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes das Bild zum Erscheinen gebracht und in dem Momente des Erscheinens der grobe Trieb verlassen und die weitere feinere Einstellung des Bildes mit der Mikrometerschraube vollzogen.

Nun ist zwar das Objectiv resp. der Tubus in die richtige Stellung zum Objecte gebracht; das Bild wird aber nur in Ausnahmefällen sich jetzt schon so zeigen, wie wir es definitiv zu sehen wünschen. Ein wichtiger Punkt ist noch zu erledigen: die endgültige Regulirung der Beleuchtung. Wir hatten die Beleuchtung zunächst nur so eingerichtet, dass überhaupt Strahlen der Lichtquelle, von dem Spiegel reflectirt, durch das Abbe'sche Condensorsystem in das Objectiv gelangten. Es kommt jetzt noch darauf an, die Stellung des auf- und abwärts verschieblichen Abbe'schen Apparates so zu reguliren, dass der Vereinigungspunkt der aus ihm heraus in das Object eintretenden Lichtstrahlen in dem Objecte selbst liegt. Denn dies ist, wie wir oben (p. 46) hervorgehoben haben, zum Zustandekommen eines möglichst guten Bildes stets erforderlich.

Um diese zweckmässigste Stellung des Beleuchtungskörpers zu finden, kann man sich entweder des Verfahrens bedienen, das wir oben bei der Einstellung des hängenden Tropfens anwandten, und das darauf beruht, dass man, indem man das Object mit schwachem Objectiv ansieht, den Abbe'schen Apparat so stellt, dass das Bild der Lichtquelle in der Objectebene direct sichtbar wird. Will man aber das

schwache Objectiv umgehen (und dies pflegt man bei der Betrachtung gefärbter Trockenpräparate gewöhnlich zu thun), so findet man jene zweckmässigste Stellung des Beleuchtungskörpers auf eine etwas andere Weise. Hat man nämlich zunächst, wie erörtert, überhaupt bei irgend welcher Beleuchtung das Bild mit dem Immersionssystem möglichst scharf eingestellt, so bringt man nun das Princip der maximalen Beleuchtung zur Anwendung; d. h. man regulirt Abbe- und Spiegelstellung gleichzeitig so, dass das Centrum des Gesichtsfeldes resp. das Object sich möglichst hell beleuchtet zeigt. Es ist klar, dass dies Letztere nur dann zu Stande kommen kann, wenn die von der Lichtquelle ausgehenden Strahlen sich genau in dem Objecte oder in der Objectebene vereinigen. Das Princip, die Beleuchtung maximal zu machen, ist also identisch mit dem Principe, das Bild der Lichtquelle in das zu beobachtende Object zu projiciren; und ich darf daher das Princip der maximalen Beleuchtung, welches ich übrigens nirgends in dieser Fassung aufgestellt resp. definirt finde, ganz allgemein für das mikroskopische Arbeiten empfehlen.

Noch ein Wort über das rein manuelle Vorgehen bei dem Einstellen dieser maximalen Beleuchtung: Vorausgesetzt, wir hätten das Object mit dem Immersionssystem bei irgend welcher Beleuchtung zunächst möglichst scharf eingestellt, so würden wir weiterhin nur an der Spiegelstellung und an der Stellung des Abbe'schen Condensors eventuelle Aenderungen vorzunehmen haben. Wir bringen dann die linke Hand an den Trieb des Abbe'schen Apparates, die rechte an die Spiegelfassung, richten den Spiegel zunächst so, dass die Mitte des Gesichtsfeldes oder das Gesichtsfeld überhaupt möglichst stark beleuchtet ist, und schrauben nun den Abbe'schen Apparat auf- oder abwärts, je nachdem die Lichtstärke in der ersten oder in der zweiten Bewegungsrichtung zunimmt, bis wir zum Maximum der Lichtstärke gekommen sind. An der Spiegelstellung nehmen wir nur dann in den einzelnen Momenten dieser Regulirung der Abbe-Stellung Veränderungen vor, wenn die Beleuchtung aus dem Gesichtsfelde herausgehen resp. nicht centrisch bleiben sollte. Bei einem ideal construirten Mikroskope ist dies allerdings nicht der Fall; die meisten, auch die besten Instrumente, zeigen aber Fehler in der Centrirung des Abbe'schen Condensors, und diese werden durch geringe Aenderungen der Spiegelstellung corrigirt. Nun würde noch feinste Einstellung der Bildschärfe mit der Mikrometerschraube erfolgen; und dann ist die gesammte Disposition des Mikroskopes die zweckmässigste, die unter den gegebenen Bedingungen möglich ist.

Dass wir bei der geschilderten Einstellung des gefärbten Präparates keine Abblendung des Abbe'schen Condensors vornehmen, sondern denselben voll zur Wirkung kommen lassen, ist nach den oben (p. 47) über die Functionen des Abbe'schen Apparates gegebenen Erörterungen selbstverständlich.[1])

Das Verfahren der mikroskopischen Einstellung des gefärbten Trockenpräparates würde sich also folgendermassen gestalten:

1) Position des Präparates auf dem Objecttisch so, dass etwa die Mitte des Deckgläschens in der optischen Axe liegt.

2) Bringen eines Tropfens Cedernöl central auf das Deckglas.

3) Vorsichtiges Niederschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes bis zum Eintauchen des Immersionssystems in das Oel. Zurückschrauben des Tubus, ohne die Oelverbindung zu zerreissen.

4) Entfernung jeder Blendung unterhalb des Abbe'schen Apparates. Stellung des Planspiegels so, dass das Gesichtsfeld (irgendwie) beleuchtet erscheint.

5) Vorsichtiges, langsames Niederschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes bis zum Erscheinen des Bildes.

6) Loslassen des groben Triebes und möglichste Scharfstellung des Bildes mit Hülfe der Mikrometerschraube.

7) Herstellung der maximalen Beleuchtung durch Regulirung der Abbe- und Spiegelstellung nach der oben (p. 60) angegebenen Methode.

Hat man auf diese Weise eine Stelle des Präparates eingestellt, so unterwirft man dieselbe der Besichtigung und kann dann, die eine Hand am Präparate, die andere an der Mikrometerschraube, durch Verschiebung des Präparates sich beliebige weitere Stellen des Präparates zur mikroskopischen Anschauung bringen. An der Beleuchtung braucht man währenddessen naturgemäss nichts zu ändern.

---

[1]) Arbeitet man bei Lampenlicht, so ist das Mikroskopiren bei der geschilderten Beleuchtung, namentlich wenn man schwache Oculare verwendet, für ein normales Auge höchst unangenehm. Das Auge wird durch die Fülle der Lichtstrahlen erheblich geblendet. Man mache es sich, wenn man seine Augen lieb hat, zur Regel, bei der Beobachtung mit Lampenlicht und vollem Condensor stets blaue Gläser zu benutzen (cf. p. 46, Anm. 1). Es ist nicht statthaft, das Licht dadurch abzustumpfen, dass man den Condensor abblendet, oder dass man durch vertikale Verschiebung des Condensors von dem Principe der maximalen Beleuchtung abweicht. Denn in den beiden letzteren Fällen würde man mit engerem Beleuchtungskegel arbeiten, Diffractionssäume an den Contouren der Objecte erzeugen und ein Zustandekommen des gewünschten (und für die meisten Zwecke unumgänglich nothwendigen) reinen Farbenbildes (cf. p. 48) vereiteln.

An einem solchen gefärbten Trockenpräparate zeigen sich nun die einzelnen Bakterien, und zwar der Protoplasmakörper derselben, mehr oder weniger intensiv gefärbt. Sind die Hüllen (cf. p. 9) stärker entwickelt, so kommen sie als weniger intensiv oder auch als kaum gefärbter den Protoplasmakörper umgebender Hof deutlich zur Erscheinung (vgl. Taf. XI, Fig. 64; Taf. XII, Fig. 67).

Häufig finden wir in einem gefärbten Trockenpräparate (und dasselbe gilt auch für die später zu besprechenden Schnittpräparate) nicht alle Individuen (die zu derselben Art gehören) gleichmässig gefärbt. Neben solchen, deren Protoplasmakörper sich intensiv tingirt hat, sehen wir andere, die blass, schlecht gefärbt erscheinen. Es handelt sich hier um Individuen, die in Degeneration begriffen oder vollständig degenerirt sind, und deren Protoplasma damit die Fähigkeit verloren hat, sich mit Farbstoffen zu beladen. Der Verlust der Färbbarkeit lässt mit Sicherheit auf eingetretenen Tod schliessen (R. Koch[1]); andererseits ist es aber nicht statthaft, aus der erhalten gebliebenen Färbbarkeit den Schluss zu ziehen, dass das Individuum vor der Präparation noch völlig lebenskräftig war, wie neuere Untersuchungen von Baumgarten und Braem[2]) gezeigt haben.

Sind in dem Trockenpräparate Bacillen vorhanden, welche ausgebildete Sporen enthalten, so zeigen sich die letzteren als ungefärbte Körper innerhalb des Bacillenleibes, der im Uebrigen noch ganz normal gefärbt sein kann (cf. Taf. IV, Fig. 19; Taf. VI, Fig. 35: Taf. VII, Fig. 39). Man hüte sich aber davor, jede ungefärbte Stelle in einem gefärbten Bacillus als „Spore“ anzusprechen. Die ausgebildete Spore hat eine resistente Membran (cf. oben p. 16), welche auch dem Eindringen von Farbstofflösungen einen sehr erheblichen Widerstand entgegensetzt. Aus diesem Grunde erscheinen im gefärbten Trockenpräparat die Sporen gewöhnlich ungefärbt; aber es können innerhalb von Bacillen Stellen auch aus anderen Gründen ungefärbt bleiben z. B. wenn das Protoplasma bei beginnender Degeneration hier und da seine Färbbarkeit eingebüsst hat. Ferner kommt es auch, wie Buchner[3]) gezeigt hat, vor, dass bei dem Zutritte der Farblösung das Bacillenprotoplasma sich innerhalb der Bacillenmembran etwas contrahirt und so eine ungefärbte vacuolenartige Stelle entsteht. Zur sicheren Diagnose einer „Spore“ ist ausser der Beobachtung des

---

[1]) Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfections-Krankheiten. Leipzig. 1878. p. 53.

[2]) cf. Centralbl. f. klin. Med. 1888. No. 29.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 12—13.

Färbungsverhaltens vor Allem der Nachweis der Keimfähigkeit des Gebildes nothwendig.

Hat man Blut auf Bakterien zu untersuchen, so kann man sich mit Vortheil der geschilderten Methode der Darstellung des gefärbten Trockenpräparates bedienen.[1] Bei richtiger Erhitzung des Präparates (gelegentlich der Fixirung) zeigen sich dann die Bakterien am intensivsten gefärbt, die rothen Blutkörperchen in ihrer Gestalt erhalten und weniger intensiv gefärbt, das Plasma wenig gefärbt. Mitunter stört aber die Färbung der Blutkörperchen und des Plasma die Bakterienfärbung resp. Bakterienbeobachtung, und es ist dann mit Vortheil ein Verfahren anzuwenden, welches ich[2] ursprünglich zur Färbung von Recurrensspirillen in Blutpräparaten angegeben, dann aber zur Darstellung von Bakterien in Blutpräparaten überhaupt[3] empfohlen habe. Dies Verfahren beruht darauf, dass durch Abspülen der getrockneten und fixirten Blutpräparate mit dünner (1—5 procentiger) Essigsäurelösung das Haemoglobin aus den Blutscheiben extrahirt und ein grosser Theil des Plasma von dem Glase heruntergewaschen wird, ohne dass die Fixirung der Bakterien dabei leidet. Trocknet man hinterher die Schicht wieder, so kann man sie nun wie gewöhnlich färben, und man erhält so eine ziemlich isolirte Färbung der Bakterien; die Blutkörperchen erscheinen nur noch wie blosse Schemen und stören das Bild der gefärbten Bakterien nicht mehr. Fig. 68 auf Taf. XII (Recurrensspirillen in Blut) ist nach einem auf die beschriebene Weise hergestellten Präparate aufgenommen.

Die eben geschilderte Methode lässt aber manchmal im Stich, wenn die Blutschicht bereits vor sehr langer Zeit am Deckglas angetrocknet und das Präparat in diesem Zustande aufbewahrt wurde. Das Plasma ist dann so fest am Deckglase angetrocknet, dass es nicht gelingt, dasselbe mit Essigsäurelösung abzuspülen. Hier habe ich[4] mit Erfolg folgenden Kunstgriff angewendet: Ich behandelte so eingetrocknete Schichten mit 2—3 proc. wässeriger Pepsinlösung. Das Plasma wurde in kurzer Zeit peptonisirt, die Bakterien blieben wohl erhalten.

Auch die weiterhin noch zu besprechende Gram'sche Methode

---

[1]) Vergl. p. 55 (Empfehlung des Methylenblaus für die Untersuchung eiweisshaltiger Flüssigkeiten).

[2]) Fortschritte d. Medicin. 1885. p. 755.

[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 22.

[4]) Ebenda.

lässt sich bei geeigneter Natur der Objecte für Deckglastrockenpräparate verwenden.

Den folgenden Abschnitten vorgreifend wollen wir hier schon darauf aufmerksam machen, dass eine jede Färbung bei höherer Temperatur schneller vor sich geht und unter Umständen überhaupt bessere Resultate giebt als die Färbung bei niedrigerer Temperatur.[1]) Von dieser Thatsache kann man manchmal bei der Darstellung von Trockenpräparaten Gebrauch machen. Findet man nämlich, dass sich ein bestimmtes Material bei der gewöhnlichen, geschilderten Behandlung nur mässig färbt, dass die Bakterienzellen sich im Allgemeinen nur schlecht mit Farbstoff beladen, so kann man oft ganz gute Bilder erzielen, wenn man das mit der Pincette gehaltene fixirte und mit Farbstofflösung bedeckte Deckgläschen für wenige Secunden mitten in die Gas- oder Spiritusflamme bringt. Die Farbflüssigkeit fängt dann an zu dampfen und wird, ehe sie einzutrocknen beginnt, mit Wasser in der gewöhnlichen Weise heruntergespült.

Durch die bisher geschilderten Methoden, gefärbte Trockenpräparate darzustellen, wird, wie bereits besprochen, das Bakterienprotoplasma gefärbt; auch die Hülle nimmt oft in gewisser Weise Färbung an. Absolut ungefärbt bleiben hingegen die Geisselfäden, die Bewegungsorgane der eigenbeweglichen Bakterienarten (cf. oben p. 13). Methoden, Geisselfäden an Bakterien zur Anschauung zu bringen, wurden zuerst von R. Koch angegeben. Koch wies diese zarten Gebilde zuerst an einigen Spirillen- und Bacillenarten nach, die, am Deckglase angetrocknet, ungefärbt und ohne Zusatz einer Einschlussmasse bei bestimmter Beleuchtung die Geisselfäden sehr deutlich erkennen liessen.[2]) Dann gelang es Koch auch, die Geisselfäden mit concentrirter wässeriger Lösung von Extract. campechian. zu färben[3]), während sie sich mit Anilinfarben nicht färbten. Immerhin hat man mit Hülfe dieser von Koch angegebenen Methoden nur bei wenigen Arten beweglicher Bakterien Geisselfäden nachzuweisen vermocht.

Im Jahre 1889 ist dann von Loeffler[4]) ein Verfahren gefunden worden, welches die Geisseln der Färbung mit Anilinfarben zugänglich gemacht und eine ganz allgemeine Darstellbarkeit dieser Gebilde

[1]) Dies entspricht der oben (p. 31) erwähnten wichtigen Thatsache, dass ein jedes chemische Desinfectionsmittel bei höherer Temperatur energischer wirkt als bei niedrigerer. So wie das Desinfectionsmittel bei der höheren Temperatur schneller in die Bakterienzelle eindringt, so thut dies auch der Farbstoff.

[2]) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1877. p. 404, 416—417.

[3]) Ebenda p. 419.

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 8/9.

ermöglicht hat. Loeffler behandelt die Trockenpräparate zunächst mit einer Beize; dadurch werden die Geisseln befähigt, Anilinfarbstoffe aufzunehmen.

Das Loeffler'sche Geisselfärbungsverfahren, welches der Autor später[1]) noch verbessert hat, gestaltet sich in dieser verbesserten Form folgendermassen: Das Bakterienmaterial wird, möglichst frei von schleimigen oder eiweisshaltigen Beimengungen und möglichst frei von anhaftender Gelatine, mit Hülfe eines Tröpfchens reinen Wassers in recht dünner Schicht mittels des Platindrahtes auf dem absolut sauberen Deckglase[2]) ausgebreitet. Man lässt die Schicht lufttrocken werden und fixirt das Präparat in der gewöhnlichen Weise, indem man es drei Mal durch die Flamme zieht (p. 51). Zu starkes Erhitzen hat man hierbei sorgfältig zu vermeiden. Darauf bringt man auf das mit einer Pincette horizontal gehaltene Deckglas soviel einer (weiterhin noch zu besprechenden) Beizflüssigkeit, dass das ganze Gläschen davon bedeckt ist, und hält das letztere nun in einiger Entfernung über die Flamme, bis die Flüssigkeit schwach zu dampfen beginnt. Dabei wird die Flüssigkeit durch Hin- und Herneigen des Deckglases beständig in Bewegung erhalten. Nach kurzer Zeit ($^1/_2$ bis 1 Minute) giesst man dann die Flüssigkeit ab und spült mit reinem Wasser das Deckgläschen sorgfältigst ab. Nun bläst man das an der Schicht noch anhaftende Wasser herunter (cf. p. 56) und trocknet das Gläschen in der gewöhnlichen Weise, als ob man es in Balsam einschliessen wollte. Darauf fasst man das Gläschen wiederum mit der Pincette und filtrirt einige Tropfen einer gesättigten Lösung von Fuchsin in Anilinwasser[3]) auf die zu färbende Schicht. Es folgt wieder leichte Erwärmung über der Flamme; nach mehreren Minuten spült man die Farbflüssigkeit mit Wasser sorgfältig ab, trocknet das Präparat in gewohnter Weise und schliesst es in Xylolbalsam ein. Zur Herstellung der Beize bereitet man sich zunächst eine 20 procentige wässerige Tanninlösung (20 Tannin + 80 Wasser). Zu 10 ccm dieser

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 20.

[2]) Am besten erreicht man diese Beschaffenheit des Deckglases, wenn man, wie bereits oben (p. 40, Anm. 1) angegeben, das mit Alcohol abgeputzte und dann getrocknete Deckglas in der Flamme stark erhitzt. Nach dem Erkalten kann es dann benutzt werden.

[3]) Die Darstellung des Anilinwassers ist weiter unten in Abschnitt 5 („Allgemeines über Färbung und Entfärbung") beschrieben. Zu 100 ccm Anilinwasser giebt man 4—5 g festes Fuchsin. Man schüttelt dann öfters um und erhält so in kurzer Zeit die gewünschte Farblösung. Eventuell kann man zu der letzteren noch eine geringe Menge Natronlauge (1 : 1000) zufügen.

Lösung setzt man 5 ccm einer kalt gesättigten wässerigen Ferrosulfatlösung und 1 ccm einer concentrirten wässerigen oder alcoholischen Fuchsinlösung. Die so bereitete Beize ist für manche Bakterienarten ohne Weiteres zu gebrauchen; die meisten Arten aber bedürfen noch eines Zusatzes, der die chemische Reaction der Beize in ganz bestimmter, für die verschiedenen Arten verschiedener Weise gestaltet. Nach den Ermittelungen von Loeffler scheinen diejenigen Arten, welche Säurebildner (cf. p. 35) sind, eine alkalisch reagirende Beize zu verlangen, während die Alkalibildner mit einer sauren Beize behandelt werden müssen, damit ihre Geisseln fähig werden, Anilinfarbstoffe aufzunehmen.[1])

Nach der genannten Methode sind die Präparate gefärbt, die den Photogrammen Taf. III, Fig. 18 (Micrococcus agilis mit Geisselfaden) und Taf. X, Fig. 57 (Cholerabacillen mit Geisseln) zu Grunde liegen. Die Photogramme 15—17 auf Taf. III (Spirillum Undula mit Geisseln resp. Geisselbüscheln und kurze Bacillen aus Milch mit Geisseln) sind nach der ursprünglichen Loeffler'schen Methode, welche Ferrotannat-Campecheholzlösung als Beize verwendete, gefärbt.

Die Loeffler'sche Geisselfärbungsmethode färbt nicht nur die Geisseln der Bakterien und ihren Protoplasmakörper, sondern sie färbt überhaupt die gesammte Bakterienzelle in allen ihren einzelnen Theilen. Während bei der gewöhnlichen Behandlung der Präparate mit basischen Anilinfarbstoffen nur der Protoplasmakörper (der Kern) der Bakterienzelle gefärbt wird, die Hülle nur in seltenen Fällen ganz leichte Färbung annimmt, so tingirt sich bei der Behandlung mit der Loeffler'schen Methode stets auch die Membran, die Hülle der

[1]) Loeffler benutzt zum Alkalisiren der Beize eine genau 1 proc. wässerige Lösung von Natriumhydrat; zum Ansäuern der Beize verwendet er eine verdünnte Schwefelsäure, welche so beschaffen ist, dass ein bestimmtes Volumen derselben das gleiche Volumen der 1 proc. Natronlage genau neutralisirt. Nach Loeffler ist die oben angegebene Ferrotannatfuchsinbeize ohne Zusatz gerade richtig für Spirillum concentricum; für die Cholerabacillen bedürfen 16 ccm der Beize eines Zusatzes von $^1/_2$ bis 1 Tropfen der Säure (1 ccm = 22 Tropfen gerechnet); bei Bac. pyocyaneus ist ein Zusatz von 5—6 Tropfen Säure, bei Spirillum rubrum ein solcher von 9 Tropfen Säure erforderlich; der Typhusbacillus bedarf eines Zusatzes von 22 Tropfen Natronlauge, Bac. subtilis eines solchen von 28—30 Tropfen Natronlauge, die Bacillen des malignen Oedems und des Rauschbrandes bedürfen eines solchen von 36—37 Tropfen Natronlauge zu 16 ccm der Beize. Der Bacillus cyanogenus erfordert (im Gegensatz zu den genannten Arten) keine bestimmte Reaction der Beize. Der Zusatz darf hier zwischen 20 Tropfen Säure und 15 Tropfen Natronlauge schwanken.

Bakterienzelle, und zwar in derselben intensiven Weise wie der Protoplasmakörper. Es folgt daraus, dass eine und dieselbe Bakterienzelle verschieden dick erscheinen muss, je nachdem sie nach der einen oder nach der anderen Färbungsmethode behandelt worden ist. Eine Illustration des Gesagten giebt ein Vergleich der Figuren 55 und 57 auf Taf. X. In Fig. 55 haben wir Cholerabacillen, welche einfach mit Fuchsin gefärbt sind. Hier ist also nur der Protoplasmakörper, der Kern der einzelnen Zellen gefärbt. In Fig. 57 haben wir dieselben Organismen, nach der Loeffler'schen Geisselfärbungsmethode behandelt; hier ist die Hülle mitgefärbt. Dieselben Organismen erscheinen in Fig. 57 also dicker als in Fig. 55.

4. Beobachtung der Bakterien in Schnitten. Allgemeines über Schnittbehandlung.

Will man Bakterien in Schnitten thierischen Gewebes zur Darstellung bringen, so werden die Schnitte am besten gewissen Methoden der Färbung unterworfen. Wie wir sehen werden, gelingt es so stets, im Gewebe vorhandene Bakterien nachzuweisen. Ungefärbt lassen sich die Bakterien in Schnitten nur sehr schwer nachweisen. Die Bakterien sind im natürlichen Zustande ebenso ungefärbt wie die Gewebstheile; durch die Contouren der letzteren werden die Contouren der Bakterien verdeckt, und es gelingt, auch bei den grössten Formen, nie, in einem ungefärbten Schnitte Bakterien zu sehen, ohne dass derselbe eingreifenden Proceduren durch Einwirkung besonderer Reagentien unterworfen wird. Die Bakterien sind nun im Gegensatz zu dem thierischen Gewebe durch eine erhebliche Resistenz gegen Säuren und Alkalien ausgezeichnet, und man kann daher dadurch, dass man die Schnitte mit derartigen Reagentien behandelt, d. h. dass man die Gewebstheile mehr oder weniger zerstört, Bakterien zu sehen bekommen. Am besten eignet sich als Reagenz verdünnte Kalilauge, in der der Schnitt (unter dem Deckglase) stark erwärmt wird. Die Gewebstheile werden hierbei zerstört, die Bakterien treten hervor. Immerhin sind diese Manipulationen umständlich und führen doch nur sehr bedingungsweise zu einem Resultat. Man kann auf solche Weise wohl grosse Formen (z. B. Milzbrandbacillen) sichtbar machen, auch grosse zusammenhängende Mikrococcenhaufen zur Darstellung bringen; aber „manche, namentlich sehr kleine Bakterien, werden durch diese Reagentien ebenso zerstört oder verändert wie die thierischen Gewebe, und auch in letzteren finden sich oft unbestimmbare Körnchen, die durch Säuren und Alkalien nicht

beseitigt werden." (R. Koch.[1]) Ausserdem macht die bei den genannten Proceduren unvermeidliche Schädigung des Gewebes eine Beurtheilung der Lageverhältnisse der Bakterien im Gewebe vollständig unmöglich.

Man wird daher, wenn es sich um den Nachweis von Bakterien in Schnitten handelt, stets die Färbung der Bakterien in Anwendung bringen müssen.

Die Schnitte stellt man sich am besten mit Hülfe des Mikrotoms (cf. p. 41) her. Um die Organe in schnittfähige Consistenz zu bringen, überträgt man dieselben, am besten in nicht zu grossen Stücken, aus der Leiche etc. direct in absoluten Alcohol, welcher fast ausschliesslich zur Härtung für unsere Zwecke benutzt wird. Der absolute Alcohol ist ein ausserordentlich wassergieriger, hygroskopischer Körper. Er extrahirt aus den Organen das Wasser, bringt die Theile zum Schrumpfen und verleiht ihnen dabei eine derbere Consistenz (härtet sie). Das extrahirte Wasser resp. der in der Umgebung der eingelegten Organstücke sich bildende wasserreiche Alcohol ist nun specifisch erheblich schwerer als der absolute Alcohol und sinkt infolgedessen in dem Härtungsgefässe zu Boden. Um das zu härtende Stück dauernd unter dem Einflusse absoluten Alcohols zu belassen, muss man dasselbe also in die oberen Schichten des Alcohols placiren. Man hält es hier fest am besten durch schwimmende Korkstücke, an deren unterer Seite das zu härtende Stück mit Hülfe von Stecknadeln festgesteckt wird, oder man bringt in die unteren Partien des Alcohols resp. auf den Boden des Gefässes zunächst einen grösseren Bausch Fliesspapier, auf welchem dann das zu härtende Stück ruht.

Ist das zu untersuchende Organ entwässert (gehärtet), so schneidet man sich kleine Stücke von etwa 5 mm Höhe und 1 qcm Grundfläche davon mit scharfem Messer ab, die nun auf die glatte Querschnittfläche eines Flaschenkorkes aufgeklebt werden. Das Aufkleben geschieht bequem mit einer dicken wässerigen Lösung von Gummi arabicum. Man verfährt dabei so, dass man das aufzuklebende Stück zunächst etwa eine halbe Minute an der Luft liegen lässt, um den oberflächlich anhaftenden Alcohol verdunsten zu lassen, und dass man es dann mit der Pincette fasst und es mit einer der (getrockneten) Breitseiten in einen Tropfen der Gummilösung, welche man auf der Korkfläche ausgebreitet hat, hineindrückt. Man giesst

---

[1]) Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfections-Krankheiten. Leipzig. 1887. p. 29.

dann zunächst einige Tropfen Alcohol über das gesammte aufgeklebte Stück, welche an den Seiten desselben abfliessen und die äusseren Partien der hervorgequollenen Gummilösung durch Wasserentziehung erhärten. Dadurch wird es dann ermöglicht, den Kork in umgekehrter Lage (das aufgeklebte Stück nach unten) in ein Gefäss mit absolutem Alcohol zu übertragen, ohne dass das Stück sich vom Korke loslöst. In dem Alcohol wird dasselbe dann belassen, bis das Wasser aus allen Theilen der Gummilösung entfernt ist, was in zwei bis sechs Stunden der Fall ist. Dann ist zwischen dem aufgeklebten Stücke und dem Korke eine sehr feste, steinharte Verbindung hergestellt; und der Kork kann nun in der Klemme des Mikrotoms fest eingespannt werden, das aufgeklebte Stück kann (unter Benetzung des Messers mit absolutem Alcohol) geschnitten werden. Man hat hierbei darauf zu achten, dass die Schärfe des Messers nicht mit den harten Gummitheilen in Collision geräth, da sie sonst leiden würde. Hervorgequollene Gummitheile müssen deshalb (mit einem Messer) vor dem Mikrotomiren entfernt werden.

Statt des Gummi arabicum kann auch Fischleim zur Aufklebung der Organstücke auf Kork genommen werden. C. Fraenkel[1]) empfiehlt zu dem Zwecke eine Mischung von 1 Gelatine, 2 Wasser. 4 Glycerin.

Will man dünne Objecte, die sich nicht zum Aufkleben eignen (z. B. Darm), mit dem Mikrotom zerlegen, so empfiehlt es sich, dieselben zwischen Stücken von gut gehärteter Amyloidleber zu placiren und mit diesen in die Klammer des Mikrotoms einzuspannen. Die Leber wird dann mit dem Darm etc. zugleich geschnitten.

Für Gewebe, welche Hohlräume enthalten und sich deshalb an und für sich weniger gut zum Zerlegen in zusammenhängende Schnitte eignen, kann man mit Vortheil die Schiefferdecker'sche Celloidinmethode[2]) anwenden. Man härtet zu dem Zwecke die kleinen, zurechtgeschnittenen Stücke erst gut in absolutem Alcohol und bringt sie dann aus dem letzteren in eine dicke Celloidinlösung (das Celloidin ist ein Collodiumähnlicher Körper, welcher sich in absolutem Alcohol sowohl wie in einer Mischung von Alcohol und Aether löst). Hier bleiben die Stücke einen bis mehrere Tage bis zur völligen Durchtränkung mit der Celloidinlösung. Sie werden dann mit der Pincette herausgenommen und, mit einer Schicht der dicken Lösung noch umhüllt, mit Hülfe der letzteren direct auf die Korkfläche geklebt. Nach einigen Minuten kommt das Präparat mit dem Kork in 60 proc. Alco-

---

[1]) Grundriss d. Bakterienk. 3. Aufl. 1890. p. 79.

[2]) Arch. f. Anat. 1882.

hol, in welchem es wieder einen bis mehrere Tage verbleibt. Hier nimmt das Celloidin und mit ihm das ganze Präparat Schnittconsistenz an. Dann wird der Kork, wie oben angegeben, eingespannt, und das Präparat lässt sich nun mit dem Mikrotom (unter Benetzung des Messers mit 60 proc. Alcohol) sehr schön in zusammenhängende Schnitte zerlegen. Jeder der Schnitte ist von einem „Celloidinmantel" umhüllt, die Hohlräume des Schnittes werden ebenfalls von Celloidin ausgefüllt. Das Celloidin bleibt dann während der folgenden Färbung etc. mit dem Schnitte in stetiger Verbindung. Das Celloidin färbt sich mit Anilinfarben. Die Celloidinmethode giebt besonders gute Resultate, wenn das weiterhin zu beschreibende Gram-Weigert'sche Färbungsverfahren zur Anwendung gebracht wird.

Zum Herstellen feinster Schnitte, die allerdings zum Zwecke der Untersuchung des Gewebes auf Bakterien kaum je nöthig werden dürften, muss man die Organe in Paraffin einbetten. Es ist aber, um an den Paraffinschnitten eine Bakterienfärbung vornehmen zu können, durchaus nothwendig, das Paraffin zunächst (durch Xylol) vollständig zu entfernen und die Schnitte dann durch Alcohol (zur Extrahirung des Xylols) gehen zu lassen. Nur in den seltensten Fällen dürfte aber, wie gesagt, die Anwendung der Paraffinmethode für unsere Zwecke nöthig werden.

Dünner als 0,02 mm braucht man die Mikrotomschnitte für Bakterienuntersuchungen nicht zu machen; derartige Schnitte lassen sich bei guter Härtung des Objectes und bei gutem Zustande des Messers stets erreichen. Aber auch mit dickeren Schnitten (0,03—0,05 mm) kann man oft noch auskommen. Während des Schneidens wird (bei den auf Kork aufgeklebten und bei den zwischen Amyloidleberstücken eingeklemmten Organen) das Mikrotommesser stets mit absolutem Alcohol befeuchtet erhalten. Die Schnitte werden mit einem Pinsel von der Klinge herunter genommen und in ein Schälchen mit absolutem Alcohol übertragen.

Um die Schnitte nun zu färben, bringt man sie zunächst auf kurze Zeit in Wasser, von da in die Farblösung. Als Farbflüssigkeiten kann man alle jene Flüssigkeiten verwenden, die wir oben (p. 54) zur Färbung des Trockenpräparates verwandt haben. Wir müssen nur stets darauf sehen, dass wir eine wässerige resp. stark wasserhaltige Flüssigkeit zur Anwendung bringen. Besonders zu empfehlen ist für Schnittpräparate die Loeffler'sche alkalische Methylenblaulösung[1]), ein Gemisch von

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-A. Bd. 2. 1884. p. 439.

30 ccm concentrirter alcoholischer Methylenblaulösung und
100 ccm wässeriger Kalilösung (1 : 10000).

Die Loeffler'sche Methylenblaulösung ist, wie Methylenblaulösungen überhaupt (cf. oben p. 55), dadurch vor anderen Farbflüssigkeiten ausgezeichnet, dass sie ganz unbeschränkt haltbar und von ganz unveränderlicher Gebrauchsfähigkeit ist. Diese Farblösung soll auf unserem Arbeitstische nie fehlen.

Wenn man nun einen Schnitt aus einem thierischen Organ in eine der genannten Farbflüssigkeiten bringt und denselben nach einer Reihe von Minuten wieder herausnimmt und in Wasser abspült, so wird man in der Regel nichts weiter zu sehen bekommen als eine intensiv und gleichmässig gefärbte Masse, in der Details nicht oder kaum zu erkennen sind: das Gewebe hat sich zunächst in allen seinen Theilen mit dem Farbstoffe vollgesogen und beladen. Erst eine weitere Behandlung des Schnittes mit gewissen (weiterhin zu besprechenden) Flüssigkeiten, welche die Fähigkeit haben, den Farbstoff mehr oder weniger aus dem Schnitte zu extrahiren, lässt einzelne gefärbte Partien in dem Präparate vor anderen weniger gefärbten hervortreten. Liesse man solche Flüssigkeiten genügend lange Zeit auf den Schnitt einwirken, so würden sie allmählich eine vollständige Entfärbung des Schnittes zu Wege bringen. Lässt man sie aber nur kurze Zeit einwirken, überwacht man ihre Wirkung, so erhält man Präparate, in denen nur die Zellkerne und die (eventuell vorhandenen) Bakterien noch gefärbt sind, während die Intercellularsubstanz und auch das Zellprotoplasma wieder entfärbt sind.

Man findet so, dass die verschiedenen Bestandtheile, aus denen sich das thierische Gewebe zusammensetzt, keine principiellen Unterschiede in dem Verhalten gegen die basischen Anilinfarbstoffe zeigen. Nicht der eine Bestandtheil wird gefärbt, während der andere der Färbung widersteht; wohl aber bestehen quantitative Unterschiede in der Färbbarkeit der einzelnen Componenten des Gewebes, die sich darin äussern, dass, bei einem bestimmten Grade der Einwirkung Farbstoffextrahirender Flüssigkeiten, unter den ursprünglich gleichmässig gefärbten verschiedenen Bestandtheilen der eine den aufgenommenen Farbstoff noch festhält, während ein anderer ihn vollständig oder beinahe vollständig wieder verloren hat. Man kann so die verschiedenen Gewebsbestandtheile in eine Färbbarkeitsscala bringen, welche, wenn man mit denjenigen, die am leichtesten den Farbstoff wieder loslassen, beginnt, sich folgendermassen gestaltet:

Intercellularsubstanz,
Zellprotoplasma,

Zellkerne,

Bakterien (wenn sie vorhanden sind).

Die Farbstoffextrahirenden Flüssigkeiten (als solche kommen besonders Säuren und Alcohol zu Verwendung) bezeichnet man als „Entfärbungsmittel.“ Durch sie wird eine „Differenzirung“ herbeigeführt, d. h. einzelne Theile (Kerne, Bakterien) des Schnittes treten in isolirter Färbung vor anderen Theilen, die die Färbung verloren haben, hervor.

Ist der zuerst diffus gefärbte Schnitt genügend „entfärbt“, „differenzirt“, so ist er eigentlich fertig; da wir ihn aber schliesslich in Canadabalsam zur Conservirung einschliessen wollen, der Balsam sich aber mit irgendwie wasserhaltigen Flüssigkeiten nicht vermischen lässt, so muss zunächst aller und jeder Wassergehalt aus dem Schnitte entfernt werden; und dies geschieht durch Behandlung des Schnittes in absolutem Alcohol. Der Schnitt macht also noch ein Mal eine Entwässerung oder Härtung durch. Aber auch mit Alcohol lässt sich Balsam nicht mischen. Wir müssen deshalb den Schnitt aus dem Alcohol in eine Flüssigkeit bringen, welche auf der einen Seite die Fähigkeit hat, sich mit Alcohol zu vermischen, auf der anderen Seite aber sich auch mit Canadabalsam resp. dem von uns stets angewandten Xylol-Balsam (cf. p. 56) mischt. Derartige Körper (auch „Aufhellungsmittel“ genannt) giebt es nun eine ganze Reihe. Besonders ölige Flüssigkeiten sind mit den gewünschten Eigenschaften ausgestattet. Am meisten verwandte man, früher das Nelkenöl zu diesem Zwecke, aber auch Terpentinöl, Cedern-, Origanum-, Zimmet-, Bergamott-, Anis-Oel, Phenol, Anilin[1]) waren und sind hierzu im Gebrauch. Ich möchte für unsere Zwecke ganz ausschliesslich einen anderen, ebenfalls seit Langem gebräuchlichen, Körper empfehlen: das Xylol (cf. p. 56). Das Xylol ist ein Körper, der sich gegen mit basischen Anilinfarben gefärbte Kerne und Bakterien vollständig indifferent verhält und sich in dieser Hinsicht sehr rühmlich von verschiedenen der oben genannten Flüssigkeiten, speciell auch von dem Nelkenöl, unterscheidet, und der ohne jeden Rückstand verdunstet und nicht verharzt und schmiert, wie es z. B. ebenfalls das Nelkenöl thut. Wir behandeln

[1]) Das Phenol und das Anilin haben auch die Fähigkeit, geringe Mengen Wassers aufzulösen. Bei der (weiterhin noch zu besprechenden) Gram-Weigert'schen Methode wird das Anilin als Entwässerungsmittel verwandt. Dem Xylol kommt, wie gegentheiligen, gelegentlich zu findenden Angaben gegenüber hier ausdrücklich bemerkt sein mag, irgend welche Fähigkeit, Wasser aufzunehmen, nicht zu.

den gefärbten, dann „entfärbten“ und entwässerten Schnitt also mit Xylol.

Mit dem Xylol durchtränkt sich der Schnitt sehr schnell, und er wird dann mit Hülfe eines Spatels auf die Mitte des reingeputzten Objectträgers übertragen.

Nachdem das überschüssige Xylol von dem Schnitte durch vierfach zusammengefaltetes Fliesspapier, welches man in Berührung mit dem Schnittrand gebracht hat, abgesogen ist, wird ein Tropfen Balsam (Xylol-Balsam) auf den Schnitt gebracht, darauf mit der Pincette (cf. p. 57) das Deckglas gelegt, unter welchem sich dann der Balsam ausbreitet.[1])

Will man eine genaue Vorschrift für die practische Ausführung des geschilderten Verfahrens der Schnittfärbung und Conservirung (welches übrigens im Principe mit dem alten Weigert'schen Verfahren[2]) völlig übereinstimmt) haben, so wird man eine solche in folgendem Schema finden:

Der Schnitt wird aus einem Uhrschälchen in das andere mit der Nadel übertragen. (Schritte 1–7)

1. Uebertragen der Schnitte aus Alcohol in Wasser für 1 Minute.
2. In eine passend zusammengesetzte (cf. p. 70) Farblösung 2—5 Minuten.
3. Wasser 5 Minuten.
4. Dünne Essigsäure (etwa 1 : 1000)[3]) 1 Minute.
5. Absoluter Alcohol (Schnitt gut ausbreiten!) $^1/_2$ Minute.
6. Absoluter Alcohol $^1/_2$ Minute.
7. Xylol $^1/_2$ Minute.
8. Uebertragen auf den Objectträger mit dem Spatel.
9. Abtupfen mit Fliesspapier.
10. Aufbringen eines Tropfens Xylol-Balsam.
11. Auflegen des Deckglases (mit der Pincette).

Zu diesem Schema ist noch zu bemerken: Wir benutzen zur Aufnahme unserer Füssigkeiten, in die die Schnitte kommen sollen, am besten Uhrschälchen (cf. oben p. 40). Dieselben kommen stets rein geputzt und trocken zur Anwendung. Die Schnitte übertragen wir stets mit der Nadel aus einer Flüssigkeit in die andere, nicht

---

[1]) Wie beim Trockenpräparat, so wird man sich natürlich auch hier aus den oben (p. 57) angeführten Gründen hüten müssen, zu viel des Balsams zu nehmen.

[2]) cf. Virch. Arch. Bd. 84. 1881. p. 275 ff.

[3]) Ich halte mir eine etwa 5 proc. wässerige Essigsäurelösung vorräthig, von der ich einige Tropfen auf ein Uhrschälchen mit Wasser gebe.

mit dem Spatel, weil wir möglichst wenig Flüssigkeit mit übertragen wollen. Erst wenn die Schnitte aus dem Xylol auf den Objectträger kommen sollen, benutzen wir den Spatel. Der stumpfwinklig gebogene Spatel (cf. oben p. 40) wird in der linken Hand gehalten und unter den in dem Xylol liegenden Schnitt flach hinuntergeführt; man nimmt hier die in der rechten Hand gehaltene Nadel zu Hülfe, mit welcher man den Schnitt auf die Spatelfläche hinaufschiebt. Indem man dann den Schnitt mit Hülfe der Nadel an dem Spatel etwas festdrückt, hebt man den Spatel horizontal, d. h. mit dem Schnitte und einer Quantität Xylol beladen (das man nicht abfliessen lässt), aus der Flüssigkeit heraus und legt ihn sofort auf den Objectträger auf, auf den man nun mit Hülfe der Nadel den Schnitt von dem Spatel hinüberschiebt oder zieht. Die mit übertragene Menge Xylol erleichtert ein glattes Hinübergleiten des Schnittes auf den Objectträger sehr. Bei dem folgenden Abtupfen des Xylols von dem Schnitte muss man darauf sehen, dass der Schnitt nicht etwa zu trocken wird, weil er sonst nach dem Einschlusse in Balsam Luftblasen einschliesst, die die Beobachtung sehr stören können. Es soll also nur der sichtbare flüssige Ueberschuss des Xylols mit dem Fliesspapier entfernt werden.

Den Alcohol giesst man sich in seine Schälchen ein erst unmittelbar bevor man ihn gebraucht. Der Alcohol ist ein Entwässerungsmittel. Wir müssen ihn deshalb zum Gebrauche möglichst wasserfrei haben. Wenn man aber den Alcohol eingiesst und ihn erst in einer Viertelstunde benutzt, so hat man keinen Alcohol mehr, sondern ein Gemisch von Alcohol mit Wasser, welches letztere der Alcohol aus der Luft angezogen hat, und welches vollständig genügt, um den Alcohol unfähig zu machen, die gewünschte Entwässerung herbeizuführen. Wenn wir aber den Schnitt in Xylol bringen wollen, so muss er zuvor wirklich völlig wasserfrei gemacht werden; ein Schnitt, der noch Spuren von Wasser enthält, scheidet dieses Wasser im Xylol sofort aus, und diese Wasserausscheidungen, welche dem Schnitt dann dauernd anhaften, machen das schönste Präparat oft unbrauchbar. Aus diesem Grunde habe ich in dem obigen Schema den Alcohol auch zwei Mal hinter einander angeführt; die Entwässerung soll vollständig sein.

Zum Gelingen einer guten Schnittfärbung ist es stets nothwendig, dass die einzelnen Theile des Schnittes gleichmässig der Einwirkung der verschiedenen Flüssigkeiten ausgesetzt werden. Der Schnitt soll also sowohl in der Farblösung wie in den übrigen Flüssigkeiten möglichst glatt, ohne Falten zu schlagen, liegen. Denn jede Falte bedingt einen ungleichmässigen Zutritt der einwirkenden Flüssigkeit an der gefalteten Stelle und damit auch ein mehr oder weniger

unerwünschtes Resultat. Ganz besonders hat man auf eine möglichst glatte Ausbreitung des Schnittes zu sehen in dem Augenblicke, in welchem derselbe aus der Essigsäure in den ersten Alcohol gelangt. Der Schnitt ist hier in den ersten Secunden noch dehnbar und lässt sich mit zwei Nadeln sehr gut glatt ausbreiten. Versäumt man dies aber, lässt man den Schnitt in zufällig zu Stande gekommener Faltung liegen, so wird er durch den Alcohol in dieser Lage fixirt und lässt sich nachher auf keine Weise wieder glatt ausbreiten.[1] Die Form, die der Schnitt in dem ersten Alcohol annimmt, behält er weiterhin unverändert bei.

Was bezüglich der Einwirkung der Reagentien auf gefaltete Schnittstellen gilt, das gilt natürlich ebenso für Zusammenlagerungen von mehreren Schnitten. Behandelt man eine Anzahl von Schnitten gleichzeitig in demselben Schälchen, so ist es ein Zufall, wenn man gute Resultate erhält; denn die Schnitte lagern sich gern zusammen und gestatten den Flüssigkeiten an dieser Stelle mehr, an jener weniger Zutritt. So müssen ungleichmässige Resultate zu Stande kommen. Man mache es sich deshalb zur Regel, die Schnitte einzeln, individuell zu behandeln.

Auch bei Schnitten findet übrigens wie bei Trockenpräparaten (cf. p. 64) die Färbung schneller statt und wird intensiver bei höherer als bei niedrigerer Temperatur. Man darf aber nur ganz mässig erhöhte Temperaturen zu Schnittfärbungen verwenden, höchstens Temperaturen von 40—50° C. (R. Koch)[2]. Bei höheren Temperaturen schrumpfen die Schnitte ein und werden unbrauchbar.

Bei den hier geschilderten Methoden der Schnittbehandlung wird der Schnitt behufs der Conservirung in Canadabalsam stets in Alcohol entwässert und gelangt dann durch einen mit Alcohol sowohl wie mit Canadabalsam mischbaren Körper hindurch (Xylol) in den Balsam.

Für bestimmte Zwecke (speciell zur Conservirung von Lepra-

---

[1] Streng genommen ist dies nicht ganz richtig. Ein Mittel, einen solchen in gefalteter Lage fixirten Schnitt wieder glatt zu machen, giebt es doch: Man bringt den gefalteten Schnitt aus dem Alcohol wieder in eine wässerige Flüssigkeit resp. in reines Wasser zurück. Er begiebt sich hier, da er mit dem specifisch leichteren Alcohol getränkt ist, sofort an die Oberfläche und breitet sich gleichzeitig aus; in den allermeisten Fällen bekommt man auf diese einfache Weise einen untadelhaft glatten Schnitt, den man nachher von Neuem zur Entwässerung in Alcohol etc. übertragen muss. Es ist jedoch zu beachten, dass der Schnitt bei dem geschilderten Zurückbringen in Wasser jedesmal etwas von seiner Färbung verliert.

[2] Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 10.

schnitten) hat Unna[1]) eine erheblich abweichende Methode der Schnittbehandlung angegeben, welche er „Trockenmethode" oder auch „Antrocknungsmethode" genannt hat. Die Schnitte gelangen dabei nach der Färbung und Differenzirung nicht in Alcohol, sondern in Wasser, werden von hier mit dem Spatel auf den Objectträger übertragen, mit Fliesspapier abgetrocknet und dann über der Flamme schnell bis zu vollständiger Trockenheit erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit einem Tropfen Balsam das Deckgläschen aufgekittet. Wir werden Gelegenheit haben, diese für manche Zwecke ganz ausgezeichnete Methode noch zu besprechen.

Auch bei der weiterhin noch zu nennenden Weigert'schen Modification des Gram'schen Verfahrens wird die Differenzirung und Entwässerung des Schnittes auf dem Objectträger vorgenommen.

Was nun die mikroskopische Betrachtung der gefärbten Schnittpräparate angeht, so ist es anzuempfehlen, stets zunächst eine Durchmusterung des Präparates mit schwachem System vorzunehmen. Nur auf diese Weise wird man unter Umständen etwa vorhandene Bakterien mit Sicherheit auffinden können. Es giebt zwar genug Fälle, in denen wir die Bakterien an jeder Stelle des Schnittes antreffen, in anderen Fällen aber treten die Bakterien in einzelnen zerstreuten Herden auf, und diese können, wenn man a priori mit starkem Objectiv untersucht, sehr leicht sich der Auffindung entziehen. Im Uebrigen gelten für die Einstellung des Präparates die oben (p. 47 und 59) bezüglich der Beleuchtung gegebenen Grundsätze: Da es sich um gefärbte Objecte handelt, die wir betrachten wollen, so nehmen wir den vollen Abbe'schen Condensor; den Trieb des Condensors stellen wir so ein, dass die Beleuchtung maximal ist.

Ein nach der angegebenen Methode angefertigtes, gut gelungenes Präparat zeigt Bakterien und Gewebskerne gefärbt, die übrigen Theile mehr oder weniger ungefärbt. Die eigenthümliche Form der Bakterien, ihre Grössenverhältnisse, ihre Gruppirung zu kleineren oder grösseren Verbänden oder Haufen macht eine Verwechselung der Bakterien mit gefärbten Theilen des thierischen Gewebes kaum möglich. Anlass zu Verwechselungen in dieser Hinsicht haben die von Ehrlich[2]) entdeckten, in normalem und pathologischem Gewebe vorkommenden Plasmazellen (Mastzellen) gegeben. Diese Zellen besitzen einen (bei der Färbung mit Anilinfarbstoffen ungefärbt bleibenden) Kern,

---

[1]) Monatshefte f. pract. Dermatologie. Ergänzungsheft. 1885. — Centralbl. f. Bakter. Bd. 3. 1888. p. 314.

[2]) Arch. f. mikroskop. Anatomie. Bd. 13. 1877. p. 263.

um den herum ein Haufen intensiv färbbarer Körner gruppirt ist. Diese Körner sind häufig für Mikrococcen gehalten worden. „Doch sind die Körnchen gewöhnlich von ungleicher Grösse. Dieses letztere Verhalten, das Vorhandensein eines Kernes, und der Vergleich mit anderen ebensolchen Zellen sichern indessen leicht ihre Diagnose.“ (Koch.)[1]

Selbstverständlich erscheinen bei der mikroskopischen Betrachtung eines jeden Schnittpräparates diejenigen Gewebstheile und speciell auch diejenigen Bakterien dem Auge am besten und klarsten, welche in den obersten Schichten des Schnittes liegen. Für Demonstrationszwecke, ferner zum Zwecke der photographischen Darstellung etc. wird man möglichst dementsprechend gelegene Stellen auszusuchen haben.

5. Allgemeines über Färbung und Entfärbung. Leicht und schwer färbbare und entfärbbare Objecte.

In den vorhergehenden Abschnitten haben wir gesehen, dass die Bakterien ganz im Allgemeinen die Eigenschaft haben, aus geeigneten Lösungen basischer Anilinfarbstoffe den Farbstoff aufzunehmen, sich zu färben; wir sahen weiter, dass dieselbe Eigenschaft auch den Zellkernen des thierischen Gewebes zukommt. Es machte bezüglich des principiellen Vorgehens bei der Färbung auch keine Unterschiede, ob die Bakterien am Deckglase angetrocknet oder ob dieselben im Gewebsschnitt vertheilt gefärbt werden sollten. Die anzuwendenden Lösungen waren dieselben, und hier wie dort erfolgte die Färbung in kürzester Zeit. Dass Trockenpräparate sich im Allgemeinen schneller färben als Schnitte, liegt nicht etwa an einer principiellen Verschiedenheit der zu färbenden Objecte selbst, sondern nur an der verschiedenen Art der äusserlichen Disponirung dieser Objecte. Das Trockenpräparat stellt eine dünne, trockene Schicht dar, welche beim Benetzen mit wässerigen Flüssigkeiten, also auch beim Benetzen mit den Farbstofflösungen aufquillt und sich in dem letzteren Falle begierig mit der Farbstofflösung vollsaugt. Beim Schnitte hingegen haben wir eine grössere Gewebsmasse vor uns, welche mit Alcohol oder Wasser durchtränkt ist. Diese durchtränkenden Flüssigkeiten müssen dann beim Einbringen des Schnittes in die Farblösung erst durch Diffusion entfernt werden.

Die eigentliche „Färbung“ der einzelnen Bakterienzellen erfolgt also, gleichgültig ob ein Schnitt oder ein Trockenpräparat vorliegt, im

[1]) Unters. üb. d. Aetiol. d. Wundinfect.-Krankheiten. Leipzig. 1878. p. 38.

Allgemeinen in kürzester Zeit — vorausgesetzt, dass man passende Farblösungen anwendet. Mehrmals haben wir bereits betont, dass diese Lösungen wässerige sein müssen. Es lässt sich nun leicht nachweisen [1]), dass rein alcoholische Lösungen, d. h. Lösungen der Farbstoffe in absolutem Alcohol, überhaupt nicht die Spur bakterien- und kernfärbender Eigenschaften haben.

Man stelle sich irgend welches Trockenpräparat durch Verreiben von Bakterienmaterial auf dem Deckglase, durch Ausstreichen von Blut, Eiter etc. auf demselben, dar. Man fixire es in der gewöhnlichen Weise. Das absolut trockene Deckglas fasse man mit absolut trockener Pincette und gebe nun auf die angetrocknete Schicht mehrere Tropfen einer concentrirten Lösung eines basischen Anilinfarbstoffes in absolutem Alcohol. Nach einigen Secunden spüle man das Deckglas mit absolutem Alcohol ab. Die Schicht ist vollständig ungefärbt geblieben. Die Bakterien resp. die Kerne der Eiterzellen etc. haben nicht vermocht aus der alcoholischen Lösung Farbstoff aufzunehmen, trotzdem dass diese Lösung procentisch so viel Farbstoff enthält wie keine auf irgend welche sonstige Weise darstellbare Lösung. Ich will bemerken, dass man, nach dem Aufbringen der Farblösung auf das Präparat, dasselbe, um die Färbung eventuell zu beschleunigen, in die Flamme halten kann, so dass die Farblösung anfängt zu brennen. Entfernt man dann das Präparat aus der Flamme und spült es nach dem Ausblasen der brennenden Farblösung mit absolutem Alcohol ab, so ist das Resultat dasselbe wie vorher: die Schicht ist ungefärbt geblieben.

Nun könnte zwar Jemand einwerfen, durch das Abspülen mit Alcohol, der das beste Lösungsmittel dieser Farbstoffe ist, werde die zu Stande gekommene Färbung vernichtet, der Farbstoff werde wieder extrahirt. Zur Entkräftung dieses Einwandes stelle man folgenden Versuch an: Ein beliebiges Trockenpräparat färbt man mit der wässerigen resp. stark wasserhaltigen Lösung eines basischen Anilinfarbstoffes, man spült die Lösung darauf mit Wasser ab und macht das Präparat durch Abblasen etc. in der gewöhnlichen Weise trocken, als ob man es in Balsam conserviren wollte. Das Präparat ist jetzt gefärbt. Nun legt man das absolut trockene, mit absolut trockener Pincette gefasste Deckglas in absoluten Alcohol. Der Alcohol wird nicht die Spur von Farbstoff zu extrahiren vermögen. Erst nach längerem Liegen an der Luft, wenn der Alcohol Wasser aufgenommen hat, beginnt eine ganz leichte, allmählich stärker werdende Extraction des Farbstoffes. Der

---

[1]) Diesen Nachweis habe ich in der 1. Auflage dieses Buches p. 71 geführt.

absolute Alcohol ist unfähig, dem gefärbten Präparate Farbstoff zu entziehen.

Und was von Trockenpräparaten gilt, gilt von Schnittpräparaten ganz ebenso. Nur ist es viel schwerer, sich wirklich absolut trockene Schnitte herzustellen. Ich habe zur Klarstellung dieser wichtigen principiellen Fragen Schnitte aus Alcohol mit Hülfe des Spatels auf den Objectträger gebracht. Dort habe ich sie an der Luft antrocknen lassen und nun noch über der Flamme den Objectträger leicht erwärmt, um möglichst jede Spur hygroskopisch anhaftenden Wassers zu entfernen. Nach dem Erkalten wurden die Schnitte mit concentrirter, rein alcoholischer Farblösung übergossen und nach wenigen Secunden mit absolutem Alcohol abgespült. Auch hier derselbe Effect: Ausbleiben jeder Färbung. — Dann habe ich Schnitte in wässerigen Lösungen längere Zeit gefärbt, aus der Farblösung direct auf den Objectträger gebracht, durch Aufpressen von Fliesspapier abgetrocknet und dann lufttrocken werden lassen, event. unter leichter Erwärmung. Dann sprangen die Schnitte leicht vom Glase ab oder liessen sich leicht abziehen. Der trockene Schnitt wurde dann in absoluten Alcohol versenkt. Ganz, ganz allmählich kam hier eine Extraction des Farbstoffes zu Stande, die dann mit wachsendem Wassergehalt des Alcohols, wie oben, allmählich zunahm.

Rein alcoholische Lösungen der basischen Anilinfarbstoffe sind also vollständig unfähig, Bakterien sowohl wie thierisches Gewebe zu färben, und andererseits ist der absolute Alcohol unfähig, den Farbstoff aus gefärbten Bakterienzellen und aus gefärbten Zellen thierischen Gewebes zu extrahiren.

Wenn trotzdem gerade der absolute Alcohol als „Entfärbungsmittel“ zum „Differenziren“ von gefärbten Schnitten empfohlen wird (speciell durch Weigert)[1]), so ist diese Wirkung des Alcohols darauf zurückzuführen, dass er hier auf Gewebe einwirkt, welche mit wässeriger Flüssigkeit (Farblösung) durchtränkt sind, dass der Alcohol hier also thatsächlich nicht als absoluter, sondern als mit Wasser verdünnter Alcohol zur Wirkung kommt. Der mit Wasser in gewissem Grade verdünnte Alcohol ist aber ein ausgezeichnetes Mittel, die Anilinfarbstoffe aus den Zellen zu extrahiren. Es kommen hier zwei Eigenschaften desselben zur Geltung: erstens der Wassergehalt, welcher die Flüssigkeit befähigt, die Bakterien oder thierischen Zellen etc. zum Aufquellen zu bringen, und zweitens der

[1]) Virch. Arch. Bd. 84. 1881. p. 275 ff.

Alcoholgehalt, welcher die Flüssigkeit so viel geeigneter zur Lösung der Farbstoffe macht, als es das Wasser selbst ist.

Und was für den Alcohol als Entfärbungsmittel gilt, gilt auch für den Alcohol als Constituens von Farblösungen. Einen wässerig durchtränkten Schnitt können wir auch in einer rein alcoholischen Farblösung färben, aber nicht weil die letztere an und für sich färbende Eigenschaften hätte, sondern weil sich bei dem Zutritt derselben zu dem Schnitte eine verdünnte alcoholische Farblösung bildet, die die Färbung bewirkt. Ebenso können wir ein trockenes Trockenpräparat mit reiner alcoholischer Farblösung färben, wenn wir zum Abspülen der Farblösung nicht Alcohol, sondern Wasser nehmen. Die im Momente des Abspülens sich bildende verdünnte alcoholische Lösung bewirkt die Färbung.

Hinsichtlich der hier aufgestellten principiellen Eigenschaften des absoluten Alcohols ist zu bemerken, dass einerseits bereits Weigert[1]) darauf aufmerksam gemacht hat, dass man die Schnitte „über eine Stunde (bei intensiver Färbung noch länger) in Alcohol lassen kann, ohne dass sie die Kern- und Bakterienfärbung abgeben", und dass andererseits Friedländer[2]) betont hat, dass „ein grösserer Zusatz von Alcohol als etwa 10 % zu der Farblösung das Färbungsvermögen derselben beeinträchtigt." Dass aber der Alcohol als solcher gar keine entfärbenden und rein alcoholische Farblösungen gar keine färbenden Eigenschaften haben, ist, so viel ich weiss, zuerst von mir ausgesprochen worden.

Wir werden derartige Eigenschaften des Alcohols und alcoholischer Lösungen nur durchaus verständlich finden müssen. Die Bakterienzelle ebenso wie die thierische Gewebszelle ist nur in Wasser quellbar, nie in absolutem Alcohol. Damit die Zelle aber aus irgend welcher mit ihr in Berührung kommenden Flüssigkeit Bestandtheile in sich aufzunehmen vermag, muss sie in der Flüssigkeit zunächst in gewissem Grade aufzuquellen vermögen. Wir sehen hier sehr enge Analogien zwischen den Vorgängen, die sich bei der Färbung einer Zelle abspielen, und denjenigen, die bei der Einwirkung antiseptischer Flüssigkeiten auf die Zelle in Frage kommen.[3]) Wie wir bereits oben (p. 28) mittheilten, fand R. Koch[4]), dass eine alcoholische Lösung von Carbolsäure nicht die geringste Einwirkung auf die Keimfähigkeit

[1]) Ebenda p. 280.

[2]) Mikroskopische Technik. 3. Aufl. Berlin 1886. p. 47.

[3]) Auch noch in anderer Hinsicht bestehen Analogien zwischen diesen beiden Arten von Vorgängen (cf. p. 64, Anm. 1).

[4]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 251.

von Milzbrandsporen hat, während wässerigen Lösungen derartige Einwirkungen sehr wohl zukommen.

Nach Erledigung dieser principiell wichtigen Angelegenheit wollen wir uns mit den verschiedenen Punkten beschäftigen, welche von allgemeiner Bedeutung bei der Bakterienfärbung sind. Es sind dies drei Punkte:

1) die Qualität der Farblösung,
2) die Temperatur, bei der die Färbung vorgenommen wird,
3) die Zeitdauer der Einwirkung der Farblösung.

Bezüglich des 2. und 3. Punktes gilt es ganz allgemein, dass die Färbung um so schneller vor sich geht, je höher die Temperatur ist, und dass sie desto intensiver wird, je länger wir die Farblösung auf das Object einwirken lassen.

Bezüglich des ersten Punktes haben wir bereits erörtert, dass sich rein alcoholische Lösungen gar nicht zur Färbung eignen, dass sich aber Gemische aus einem Theile derartiger Lösungen und etwa 10 Theilen Wasser ausgezeichnet zur Färbung eignen. Wir haben ferner gesehen, dass die Loeffler'sche Methylenblaulösung (cf. p. 70), welche ebenfalls eine wässerig-alcoholische ist, aber einen ganz geringen Zusatz von kaustischem Kali enthält, sich ganz besonders gut zu Färbungen eignet.

Es hat sich nun gezeigt, dass das Färbungsvermögen der wässerig-alcoholischen Lösungen überhaupt durch bestimmte Zusätze sehr erheblich gesteigert werden kann. Mehrere solcher intensiv färbenden Tinctionsflüssigkeiten sind seit Jahren in Gebrauch und haben sich sehr bewährt. Dahin gehört an erster Stelle die Ehrlich'sche Lösung, welche mit Fuchsin oder mit den Violetten hergestellt werden kann, und die ursprünglich zur Färbung der Tuberkelbacillen construirt wurde, ferner die Ziehl'sche Lösuug, welche mit Fuchsin hergestellt wird.

Die Ehrlich'sche Lösung[1]) ist eine Mischung einer concentrirten wässerigen Anilinlösung mit concentrirter alcoholischer Farbstofflösung. Sie wird folgendermassen dargestellt:

4 ccm Anilin (Anilinöl) werden mit
100 ccm Wasser

geschüttelt. Hierbei wird die grösste Menge des Anilins gelöst. Man filtrirt nun durch ein mit Wasser vollständig angefeuchtetes Filter (angefeuchtet deshalb, damit die ungelösten öligen Anilintröpfchen

[1]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1882. p. 270.

auf dem Filter zurückgehalten werden) und setzt dann zu dem klaren Filtrate („Anilinwasser“)

11 ccm concentrirte alcoholische Fuchsin- (oder Gentiana-violett- oder Methylviolett-) Lösung.

Die Mischung wird geschüttelt. Diese Ehrlich'schen Lösungen setzen in den ersten Stunden nach ihrer Bereitung Farbstoffniederschläge ab. Schnitte, die unmittelbar nach der Herstellung der Flüssigkeit mit derselben behandelt werden, zeigen, gleichgültig ob man die Farbmischung filtrirt oder unfiltrirt zur Anwendung gebracht hat, ihre Oberfläche mit kleinsten Farbstoffniederschlägen bedeckt, die zu entfernen (ohne die Färbung im Uebrigen zu schädigen) es kein Mittel giebt. Nach 24 Stunden jedoch hat die Lösung sich geklärt, und nun stellt sie ein sehr gutes, allgemein anwendbares Färbungsmittel dar. Die Ehrlich'schen Lösungen werden mit Vortheil, wie hier schon bemerkt sein mag, zur Färbung von Tuberkelbacillen in Deckglastrockenpräparaten, die von Sputum hergestellt sind, angewendet. Die Nachbehandlung dieser Präparate bringt es mit sich, dass für diesen Zweck die Ehrlich'schen Lösungen auch ganz frisch, eben dargestellt, gebraucht werden können. Die Ehrlich'schen Lösungen halten sich mehrere Wochen, manchmal sogar einen Monat brauchbar. Allmählich jedoch wird eine derartige Lösung missfarbig, hell, der Farbstoff setzt sich als schmieriger Belag auf dem Boden und an der Wand des Gefässes ab, und die Flüssigkeit muss dann verworfen und durch neue ersetzt werden.

Die Ziehl'sche Lösung[1]) ist eine Mischung von 5 procentiger wässeriger Carbolsäurelösung mit alcoholischer Fuchsinlösung. Man stellt sie dar durch inniges Verreiben von

1 g Fuchsin mit
100 ccm 5 proc. wässeriger Carbolsäurelösung unter allmählichem Zusatze von
10 ccm Alcohol.

Die Ziehl'sche Carbolsäure-Fuchsinlösung hat ebenfalls ein ausserordentliches Tinctionsvermögen, kommt aber darin den Ehrlich'schen Lösungen sicher nicht gleich. Die Ziehl'sche Lösung ist dauernd haltbar. In diesem Punkte, durch den sich die Ziehl'sche Lösung von den Ehrlich'schen Lösungen wesentlich unterscheidet, liegt übrigens gerade ein Grund des geringeren Färbungsvermögens der Ziehl'schen Lösung gegenüber den Ehrlich'schen. Unna[2]) hat nämlich auf das allgemein gültige Gesetz aufmerksam

[1]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1882. p. 451.
[2]) Centralbl. f. Bakter. Bd. 3. 1888. p. 254.

gemacht, dass diejenigen Farblösungen am intensivsten färben, in denen der Farbstoff am schlechtesten gelöst ist, ohne jedoch ausgefällt zu werden. Unna hat diesen Zustand einer Farblösung mit dem Ausdruck der „Schwebefällung" belegt. Bei den Ehrlich'schen Lösungen ist dieser Zustand der Schwebefällung vorhanden, bei der Ziehl'schen Lösung nicht. Ich würde deshalb überall da, wo es darauf ankommt, eine möglichst intensive Färbung zu erreichen, die Ehrlich'schen Lösungen verwenden und eventuell die Mühe nicht scheuen, mir dieselben frisch darzustellen; nur im Nothfalle würde ich als Ersatz zu der Ziehl'schen Lösung greifen, die immer vorräthig und jederzeit gebrauchsfertig im Laboratorium gehalten werden kann.

Einen noch höheren Grad des Färbungsvermögens hat Loeffler[1]) den Ehrlich'schen Lösungen dadurch verliehen, dass er den Alcohol bei ihrer Zusammensetzung ganz wegliess und etwas Natronlauge zufügte. Loeffler setzte sich zur Färbung der Geisseln an Bakterien, die zunächst mit einer Beize behandelt waren (cf. oben p. 65), die Farblösung ursprünglich folgendermassen zusammen:

zu 100 ccm concentrirtem Anilinwasser[2]) wird
1 ccm 1 procentige Natriumhydratlösung zugefügt.

Das Gemisch wird mit

4—5 g festem Fuchsin (oder Methylviolett oder Methylenblau) tüchtig geschüttelt.

Diese Farbflüssigkeit dürfte an Intensität des Färbungsvermögens von keiner der bekannten Farblösungen übertroffen werden. Man sieht ohne Weiteres, dass hier ein noch höherer Grad der Unna'schen „Schwebefällung" bestehen muss als bei den Ehrlich'schen Lösungen, da ja der Zusatz des Alcohols, des ausgezeichnetsten Lösungsmittels unserer Farbstoffe, fehlt.

Unerwähnt will ich übrigens nicht lassen, dass H. Kühne[3]) als Universalbakterienfärbungsmittel eine Carbolmethylenblaulösung (dargestellt aus 1,5 g Methylenblau, 10 ccm Alcohol und 100 ccm 5 procentigem Carbolwasser) angegeben und empfohlen hat.

In dem quantitativ verschiedenen Färbungsvermögen der citirten Farblösungen einerseits, andererseits in der verschiedenen Zeitdauer der Einwirkung dieser Lösungen auf das Object und in der verschieden hohen Temperatur, bei der dies geschieht, haben wir die

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 8/9.

[2]) Dargestellt wie bei der Bereitung der Ehrlich'schen Lösungen.

[3]) Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien im thierischen Gewebe. Leipzig. 1888.

Momente, welche für die Intensität der zunächst resultirenden Färbung von Bedeutung sind.

Es hat sich nun die wichtige Thatsache herausgestellt, dass sich nicht alle Bakterienobjecte einer und derselben Farblösung gegenüber gleichartig, der Färbung gleichmässig zugängig, verhalten. Verfeinerte Methoden werden ohne Zweifel in dieser Beziehung vielfache Differenzen zwischen den verschiedenartigen Objecten auffinden, die uns heute noch unbekannt sind. Wie die Dinge heute stehen, kann man im Allgemeinen nur unterscheiden zwischen solchen Objecten, die den Farbstoff leicht aufnehmen, und solchen, die ihn schwer aufnehmen; oder anders ausgedrückt: wir haben zu unterscheiden zwischen leicht färbbaren Objecten und schwer färbbaren Objecten. „Leicht färbbar" wollen wir solche Objecte nennen, die, mit wässerig-alcoholischen Farbstofflösungen bei gewöhnlicher Temperatur behandelt, im Trockenpräparat die Färbung innerhalb weniger Secunden, im Schnitte innerhalb weniger Minuten annehmen, „schwer färbbar" solche, die unter denselben Bedingungen die Färbung noch nicht annehmen, zu deren Färbung es intensiver wirkender Methoden bedarf.

Ganz allgemein gilt es ferner, dass diejenigen Objecte, die den Farbstoff leicht annehmen, denselben auch leicht wieder abgeben, dass andererseits diejenigen, die ihn nur bei intensiverer Behandlung mit der Farblösung aufnehmen, ihn auch energischer festhalten, weniger leicht abgeben. Wir können das auch so ausdrücken: Die leicht färbbaren Objecte sind auch leicht entfärbbar, die schwer färbbaren auch schwer entfärbbar. Oben haben wir definirt, was wir unter „leicht färbbar", „schwer färbbar" verstehen. Was verstehen wir aber unter „leicht entfärbbar", „schwer entfärbbar"? Um diese Fragen zu beantworten, müssen wir uns über die Mittel, die uns zur Entfärbung der gefärbten Zelle zu Gebote stehen, informiren.

Absoluter Alcohol extrahirt, wie auseinandergesetzt, den Farbstoff aus der gefärbten, trockenen Zelle nicht. Wird der Alcohol aber mit Wasser verdünnt, so tritt eine Extraction des Farbstoffes ein. Dieselbe erfolgt aber nicht momentan, sondern langsam und allmählich. Wir können gefärbte Schnitt- sowohl wie Trockenpräparate ihres Farbstoffgehaltes allmählich vollständig berauben, wenn wir sie in verdünnten Alcohol legen und darin liegen lassen. Die Gründe für die in dieser Beziehung verschiedene Wirkung des absoluten und des verdünnten Alcohols haben wir oben (p. 79) auseinandergesetzt. Der mit Wasser verdünnte Alcohol ist also ein Extractionsmittel für den Farbstoff, ein Entfärbungsmittel. Viel schwächer als verdünnter Alcohol

wirkt blosses Wasser; aber auch das blosse Wasser ist ein Entfärbungsmittel. Es vermag in die Zelle einzudringen und den Farbstoff allmählich zu extrahiren. Sehr energisch wirkt im Vergleich zu den genannten Mitteln der öfters wiederholte Wechsel zwischen Alcohol und Wasser. Man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man die intensiven Diffusionsströme, die hier in und an dem Objecte auftreten müssen, für die Extractionswirkung wesentlich mit verantwortlich macht.

Die stärksten Entfärbungsmittel aber bilden die Säuren. Schon eine ganz verdünnte Essigsäure hat intensiv entfärbende Eigenschaften. Verdünnte Salz-, Salpeter-, Schwefelsäure wirken noch stärker. Ganz besonders stark entfärbend wirken die Säuren in Verbindung mit Alcohol. Für unseren Arbeitstisch möchte ich als stets vorräthig zu haltende Entfärbungsmittel empfehlen:

1) 5procentige wässerige Essigsäurelösung. Dieselbe kann ohne Weiteres verwendet, aber auch mit mehr oder weniger Wasser verdünnt zur Anwendung gebracht werden.

2) 20procentige wässerige Salpetersäurelösung.

3) 3procentigen Salzsäure-Alcohol (100 Alcohol absolutus, 3 Salzsäure).

Von manchen Seiten wird auch Salpetersäure-Alcohol empfohlen. Ich möchte dieser Empfehlung weniger das Wort reden: denn die Salpetersäure bewirkt sehr leicht Oxydationen des Alcohols, und man hat dann im gegebenen Falle häufig ein undefinirbares Gemisch verschiedener Aether etc. an Stelle der Alcohol-Salpetersäuremischung. Der Salzsäure-Alcohol jedoch ist unverändert haltbar.

Unter „leicht entfärbbaren“ Objecten verstehe ich nun solche, welche die Färbung bei der Behandlung mit 20procentigem Salpetersäurewasser oder mit 3procentigem Salzsäure-Alcohol in kürzester Zeit (Secunden bis Minuten) verlieren; unter „schwer entfärbbaren“ solche Objecte, die die Färbung unter diesen Bedingungen behalten.

Man kann folgende Sätze aufstellen:

1) Leicht färbbar und leicht entfärbbar sind (es färben sich in wässerig-alcoholischen Farbstofflösungen bei gewöhnlicher Temperatur in kürzester Zeit, und es entfärben sich in 20 proc. Salpetersäurewasser und ebenso in 3 proc. Salzsäure-Alcohol in kürzester Zeit):
   a) Bakterien [excl. Tuberkel- (und Lepra-) Bacillen und Bacillensporen].
   b) Zellkerne.

2) Schwer färbbar und schwer entfärbbar sind (es färben

sich nur bei Anwendung intensiver wirkender Methoden, und es entfärben sich, einmal gefärbt, nicht bei kurzer Einwirkung von 20 proc. Salpetersäurewasser oder 3 proc. Salzsäure-Alcohol):
Tuberkel- (und Lepra-) Bacillen und Bacillensporen.

Worin die intensiver wirkenden Methoden bestehen, ergiebt sich von selbst, wenn wir die oben (p. 81) dargelegten Momente in Erwägung ziehen, welche für die Intensität der Färbung in Betracht kommen. Um intensiv färbend einzuwirken, werden wir uns zunächst solcher Farblösungen bedienen müssen, denen besonders grosse Tinctionskraft zukommt, d. h. also der Ehrlich'schen Lösungen, event. auch der Ziehl'schen Lösung; hiermit werden wir in den meisten Fällen das Ziel erreichen. Kommt es auf ganz besonders intensive Einwirkung an, so werden wir uns die von Loeffler (cf. p. 83) angegebenen alkalischen Anilinwasserfarblösungen, die alcoholfrei sind, darstellen müssen. Diese intensiv wirkenden Lösungen werden wir dann, und das ist das zweite Moment, nicht bei gewöhnlicher Temperatur, sondern bei höherer Temperatur auf das Object einwirken lassen, und wir werden (dritter Punkt) nicht kurze, sondern längere Zeit die Einwirkung andauern lassen. Berücksichtigen wir im gegebenen Falle alle drei Punkte, die Qualität der Farblösung, die Temperatur und die Zeit, so wird die Intensität der Färbung ihr Maximum erreichen. Gewöhnlich aber genügt es, die intensiv färbende Flüssigkeit bei höherer Temperatur kürzere Zeit oder bei gewöhnlicher Temperatur längere Zeit einwirken zu lassen. Das erstere wird sich besonders für Trockenpräparate, das letztere besonders für Schnitte empfehlen. Deckglastrockenpräparate können wir, ohne dieselben zu schädigen, mit kochender Farbstofflösung behandeln, so lange wir wollen. Schnitte vertragen, wie oben (p. 75) gesagt, höchstens Temperaturen bis etwa 40—50° C.

Die schwer färbbaren Bakterienobjecte, die Tuberkel- (und Lepra-) Bacillen und die Bacillensporen, verhalten sich nun hinsichtlich der Zugänglichkeit für den Farbstoff verschieden. Die Leprabacillen setzen dem Eindringen des Farbstoffes den geringsten Widerstand entgegen. Sie können sich sogar manchmal, wenigstens in einzelnen Exemplaren, wie leicht färbbare Bakterien verhalten, und es ist diese Eigenschaft von Baumgarten[1]) zu einer mikroskopischen Differentialdiagnose zwischen Lepra- und Tuberkelbacillen verwandt worden. Die Tuberkelbacillen verhalten sich erheblich resistenter gegen das Eindringen des Farbstoffes. Am resistentesten verhalten sich die Ba-

---

[1]) Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. 1. 1884.

cillensporen. Die letzteren bedürfen also zum Zustandekommen der Färbung der relativ intensivsten Behandlung. Sind die genannten Objecte einmal gefärbt, haben sie den Farbstoff einmal aufgenommen, so geben sie denselben an die Entfärbungsmittel, wie erwähnt, nicht leicht wieder ab, während andere Theile des Präparates, denen die Eigenschaft der leichten Färbbarkeit zukommt, sich bei derartiger Behandlung mit Entfärbungsmitteln wieder entfärben. Es resultirt dann naturgemäss eine isolirte Färbung der vorhandenen schwer färbbaren Objecte; und damit ist dann auch die Möglichkeit gegeben, die wieder entfärbten, leicht färbbaren Theile secundär mit einer gegen die Färbung der schwer färbbaren Objecte contrastirenden Färbung, mit einer Contrast- (Gegen- oder Grund-) Färbung, zu versehen. Man kann so Präparate mit Doppelfärbung herstellen. Bei primärer Fuchsinfärbung wählt man als Gegenfarbe Methylenblau, bei primärer Violettfärbung als Gegenfarbe Bismarckbraun oder Carmin. Wir können auf diese Weise z. B. in einem Tuberkelbacillenschnittpräparate die Tuberkelbacillen fuchsinroth, die Kerne des Gewebes methylenblau färben; wir können uns Trockenpräparate von tuberculösem Sputum herstellen, in welchen die Tuberkelbacillen violett, die übrigen vorhandenen Bakterien und die Kerne der Eiterzellen etc. bismarckbraun gefärbt sind; wir können sporenhaltige Milzbrandfäden so färben, dass die Sporen fuchsinroth, das Bacillenprotoplasma methylenblau erscheinen.

Auf die Sporenfärbung werden wir bei Gelegenheit der Betrachtung des Milzbrandbacillus, auf die Tuberkelbacillenfärbung bei Gelegenheit des Tuberkelbacillus des Näheren eingehen.

6. Die Gram'sche Methode der Kernentfärbung.

Wie wir gesehen haben, lassen sich Bakterien, welche in Schnitten thierischen Gewebes enthalten sind, durch die Färbung mit basischen Anilinfarbstoffen sehr leicht der Beobachtung zugänglich machen. Wir brauchen einen solchen Schnitt nur in eine der angegebenen Farblösungen zu legen und hinterher abzuwaschen und mit schwachen Entfärbungsmitteln zu behandeln, um die Bakterien gefärbt zu Gesicht zu bekommen. Freilich sind die Kerne des Gewebes stets mitgefärbt. Würden wir auf den gefärbten Schnitt stärkere Entfärbungsmittel einwirken lassen, z. B. 3proc. Salzsäure-Alcohol, oder würden wir die schwächeren Entfärbungsmittel längere Zeit einwirken lassen, so würden allerdings die Kerne ihre Färbung verlieren; zu gleicher Zeit aber würden auch die Bakterien ihre Färbung abgeben und verblassen.

Wollen wir also in einem Schnitte die Bakterien gefärbt haben, so müssen wir eine Kernfärbung mit in den Kauf nehmen: es sei denn, dass es sich um die schwer färb- und entfärbbaren Tuberkel- (oder Lepra-) Bacillen handelte; die specifischen Eigenthümlichkeiten dieser Bakterien bringen es mit sich, dass wir sie in isolirter Färbung darstellen können.

Aus dem Schema der bisher betrachteten Färbungsmethoden fällt nun vollständig heraus ein eigenthümliches Verfahren der färberischen Behandlung bakteriologischer Präparate, welches der dänische Forscher Christian Gram[1]) im Jahre 1884 zu Berlin entdeckte. Gram gelangte durch Zufall zu dieser Entdeckung. Er hatte nämlich, wie er angiebt[2]), versucht, in pathologisch veränderten Nierenschnitten eine Doppelfärbung dadurch herzustellen, dass er dieselben zunächst in Ehrlich'scher Anilinwassergentianaviolettlösung und darauf in Jodjodkaliumlösung behandelte. Die Kerne sollten violett, die Harncylinder braun gefärbt werden. Als er nun die so behandelten Schnitte in Alcohol behufs der Differenzirung und Entwässerung brachte, beobachtete er, dass die Schnitte sich vollständig und schnell entfärbten, d. h. dass die sonst in Alcohol verbleibende Kernfärbung verschwand. In dem Schnitte vorhandene Bakterien hatten sich aber hierbei nicht mit entfärbt: im Gegentheil: sie zeigten sich äusserst intensiv, dunkel tingirt. Gram hatte also ein Verfahren gefunden, die Gewebskerne zu entfärben, ohne die Bakterienfärbung anzutasten.

Das Gram'sche Verfahren ist also kein eigentliches Färbungsverfahren, sondern es ist ein Entfärbungsverfahren, und zwar ein Kernentfärbungsverfahren. Hiermit war viel gewonnen. Es war die Möglichkeit eröffnet, jede beliebige Bakterienart in isolirter Färbung im Schnitte darzustellen und nach Belieben auch eine Gegenfärbung der Kerne eintreten zu lassen. Gram fand aber sofort, dass nicht alle Bakterienarten bei der geschilderten Entfärbungsmethode ihre Färbung behalten, sondern dass es Bakterienarten giebt, welche sich bei der geschilderten Behandlung ebenso wie die Kerne des Gewebes entfärben.

Die ursprüngliche Gram'sche Vorschrift war nun die, dass die Schnitte aus Alcohol in die Ehrlich'sche Anilinwassergentianaviolettlösung für mehrere Minuten gelangen. Hierauf werden sie in eine Jodjodkaliumlösung (1 Jod, 2 Jodkalium, 300 Wasser) für

[1]) Fortschr. d. Med. 1884. No. 6.
[2]) Ebenda. p. 186.

mehrere Minuten, darauf in Alcohol gebracht. Während sich der Schnitt in der Jodlösung glänzend schwarz gefärbt hat, giebt er in dem Alcohol sofort eine purpurrothe Farbstoffwolke ab. Wird kein Farbstoff mehr ausgezogen, so kommt der Schnitt in Nelkenöl; hier verliert er eventuell noch etwas Farbstoff. Darauf wird er in Balsam eingeschlossen.

Befolgt man diese ursprüngliche Gram'sche Vorschrift genau, so wird man meist gute Resultate erzielen; mitunter aber führt diese Behandlung nicht zu einer genügenden Entfärbung der Kerne. Es gelingt jedoch durch bestimmte kleine Abänderungen das Verfahren so zu gestalten, dass es unter allen Umständen zu dem gewünschten Ziele führt.

Im Jahre 1886 habe ich[1]) zuerst eine Modification des Gram'schen Verfahrens angegeben, die ich dann im folgenden Jahre ausführlich publicirt habe.[2]) Diese Modification, welche unter der Bezeichnung des „Gram-Günther'schen" Verfahrens bekannt geworden und der ursprünglichen Methode gegenüber vielfach mit Vortheil angewendet worden ist, unterscheidet sich dadurch von dem ursprünglichen Verfahren, dass nicht nur Alcohol, sondern daneben auch 3proc. Salzsäure-Alcohol zur Extraction des Farbstoffes benutzt wird; wesentlich ist aber, dass der Säurealcohol nur ganz vorübergehend zur Anwendung gelangt. In diesem Punkte bin ich von einigen Seiten missverstanden worden; man hat mehrfach angegeben, die von mir empfohlene Modification verwende Säurealcohol statt reinen Alcohols. Eine zweite Abweichung von der ursprünglichen Gram'schen Vorschrift liegt darin, dass nicht Nelkenöl (welches bei Gram eventuell noch zur Extraction des Farbstoffes diente), sondern Xylol zur Verwendung gelangt.

Das Gram-Günther'sche Verfahren gestaltet sich nun im Speciellen folgendermassen:

1) Der Schnitt gelangt aus Alcohol in (eben filtrirte) Ehrlich'sche Anilinwasser-Gentianaviolett- (oder Methylviolett-) Lösung auf 1—2 Minuten.[3]) Die Farblösung muss mindestens 24 Stunden alt sein (cf. p. 82).

2) Herausnehmen des Schnittes mit der Nadel, Abtupfen der überschüssigen Farblösung auf Fliesspapier und Einbringen des Schnittes in Jodjodkaliumlösung (1 Jod, 2 Jodkalium, 300 Wasser) auf 2 Mi-

---

[1]) In der mikroskopischen Technik von C. Friedländer, 3. Aufl. p. 50—51 (nach brieflicher Mittheilung an den Verfasser) angegeben.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 22. p. 474.

[3]) Eine Ausnahme machen Tuberculose- und Lepraschnitte. Die letzteren werden 1/2 Stunde, die ersteren 12—24 Stunden gefärbt.

nuten. (Der Schnitt liegt dabei, gut ausgebreitet, auf dem Grunde des Schälchens.)

3) In Alcohol auf 1/2 Minute.

4) In 3 proc. Salzsäure-Alcohol auf genau 10 Secunden.

5) Mit Ablauf der 10 Secunden sofortige Uebertragung in neuen, bereits vorher bereit gestellten reinen Alcohol auf mehrere Minuten.

6) Noch ein oder mehrere Male Uebertragung in frischen Alcohol bis zu maximaler Entfärbung (es darf keine Farbstoffwolke sich mehr von dem Schnitte abheben).

7) In Xylol. Hier kann der Schnitt beliebig lange liegen. Er hält sich in dem Xylol unbegrenzt lange unverändert. Jedoch kann er, mit Xylol durchtränkt, sofort, d. h. spätestens 1/2 Minute nach dem Einlegen in Xylol, übertragen werden

8) mit dem Spatel auf den Objectträger.

9) Nach Abtupfen des Xylolüberschusses wird ein Tropfen Xylol-Balsam aufgebracht und auf diesen das Deckglas gelegt.

Will man eine Gegenfärbung der Kerne erzielen, so kann man, wie das Gram that, die in Alcohol entfärbten Schnitte auf einen Augenblick in wässerige Bismarckbraunlösung tauchen, dann wieder in Alcohol entwässern und nach der Passage durch Xylol in Balsam einschliessen. Häufig bekommt man so ganz gute Resultate. Manchmal aber verlieren die Bakterien bei dieser Manipulation etwas von der Präcision ihrer Färbung, und bei Erysipel-Schnitten werden die Coccen, wie ich gefunden habe, bei dieser Gelegenheit sogar vollständig entfärbt. Es empfiehlt sich also die nachträgliche Grundfärbung mit Bismarckbraun im Allgemeinen durchaus nicht.

Ein anderes Verfahren der Grundfärbung bei der Gram'schen Schnittbehandlung ist jedoch für alle Fälle durchaus zu empfehlen. Bei diesem Verfahren wird die Kernfärbung vor der Bakterienfärbung vorgenommen. Die ungefärbten Schnitte gelangen hier aus Alcohol

1) in Wasser auf mehrere Minuten, darauf

2) in Picrocarminlösung[1]) 1—2 Minuten.

3) Sie werden darauf in vier- bis fünfmal erneuertem Wasser ausgewaschen und dann

---

[1]) Die Lösung stellt man sich nach Friedländer so dar, dass man eine Lösung von Carmin in Ammoniak (1 Carmin, 1 Ammoniak, 50 Wasser) zurecht macht und zu dieser soviel concentrirte wässerige Picrinsäurelösung zusetzt, bis der entstehende Niederschlag (Carmin) beim Umrühren nicht mehr gelöst wird. Eine Spur Ammoniakzusatz löst den Niederschlag wieder auf. Diese Vorschrift hat sich mir stets bewährt.

4) in Alcohol gebracht.

Die Schnitte haben nun eine wundervolle Kernfärbung (Carmin) angenommen. In dem Alcohol können sie beliebig lange, ohne sich zu verändern, aufbewahrt werden. Man kann sie dann zu beliebiger Zeit der Gram'schen resp. Gram-Günther'schen Behandlung unterwerfen, die genau so ausgeführt wird, als wenn es sich um vollständig ungefärbte Schnitte handelte. Die Carminfärbung der Kerne wird durch die Gram'sche Behandlung in keiner Weise alterirt.

Wie wir oben schon angaben, bleiben bei der Kernentfärbung nach der Gram'schen Methode eine Reihe von Bakterienarten gefärbt; eine andere Reihe von Arten theilen das Schicksal der Kerne und entfärben sich. Man sagt von den ersteren auch: „Sie färben sich nach der Gram'schen Methode", von den anderen „sie färben sich nicht nach der Gram'schen Methode." Man sagt auch einfach „sie färben sich nach Gram" resp. „nicht nach Gram". Es ist aber zu betonen, dass eine jede Bakterienart sich entweder auf die eine oder auf die andere Seite stellt. Eine Zwischenstufe in dem Verhalten giebt es nicht.

Von den pathogenen Bakterienarten färben sich nach Gram (d. h. bleiben gefärbt, während sich die Kerne entfärben):

der Milzbrandbacillus,
der Tuberkelbacillus,
der Leprabacillus,
der Bacillus der Mäusesepticaemie und des Schweinerothlaufs,
der Tetanusbacillus,
die Streptococcen (Erysipel, Pyaemie, Phlegmone),
der Staphylococcus pyogenes aureus,
der Diplococcus pneumoniae A. Fraenkel,
der Micrococcus tetragenus.

Ausserdem gehört in diese Gruppe

der Actinomyces bovis s. hominis.

Es färben sich nicht nach Gram (d. h. entfärben sich zusammen mit den Kernen):

der Typhusbacillus,
der Diphtheriebacillus,
der Rotzbacillus,
der Bacillus des malignen Oedems,
der Rauschbrandbacillus,
der Bacillus der Septicaemia haemorrhagica (Hühnercholera, Kaninchensepticaemie, Schweineseuche, Rinder- und Wildseuche),
der Kommabacillus der Cholera asiatica,

der Bacillus pneumoniae Friedländer,
der Gonorrhoecoccus,
die Spirochaete des Recurrensfiebers.

Haben wir oben angegeben, dass in Schnitten, die sich für die Gram'sche Behandlung eignen, die Kerne sich bei dieser Behandlung entfärben und allein die Bakterien gefärbt zurückbleiben, so müssen wir dieser Angabe jetzt eine gewisse Einschränkung auferlegen. Es giebt, von den Bakterien abgesehen, bestimmte Bestandtheile des Gewebes, welche bei der Gram'schen Entfärbung die einmal angenommene Färbung stets beibehalten. Dies sind:

1) die sogenannten Kerntheilungsfiguren,
2) die Plasmazellen- (Mastzellen-) Körner (cf. p. 76),
3) die Hornschicht der Epidermis.

Ferner halten auch die serösen Ueberzüge der Organe und die angrenzenden Zonen der letzteren der Gram'schen Behandlung gegenüber die Färbung ausserordentlich fest.

Es ist hier zu bemerken, dass von pflanzlichen Objecten nicht etwa nur bestimmte Bakterienarten bei der Gram'schen Entfärbung gefärbt bleiben, sondern auch andere Dinge. So z. B. sind die auf Taf. II, Fig. 7, dargestellten Hefezellen nach Gram gefärbt, d. h. das angefertigte Deckglastrockenpräparat wurde mit Ehrlich'scher Gentianaviolettlösung, dann mit der Jodjodkaliumlösung und hinterher mit Alcohol behandelt. Hierbei hielten die Hefezellen die Farbe fest.

Die Gram'sche Methode ist übrigens nur auf ganz bestimmte Farbstoffe beschränkt. Mit Fuchsin, mit Methylenblau, mit Bismarckbraun wird man nie Resultate bekommen. Einzig und allein anwendbar sind die sogenannten Pararosaniline. Wir verdanken diese Kenntniss Unna, welcher die bei der Gram'schen Methode in Betracht kommenden Verhältnisse zum Gegenstande einer ausführlichen Studie[1]) gemacht hat. Den Pararosanilinen, zu denen Methylviolett, Gentianaviolett und Victoriablau gehören, stehen die Rosaniline gegenüber. Beide Gruppen leiten sich ab von dem aus dem Methan

$$C\begin{cases}H\\H\\H\\H\end{cases}$$

abgeleiteten Triphenylmethan

[1]) Die Rosaniline und Pararosaniline. Eine bakteriologische Farbenstudie. Dermatologische Studien. Viertes Heft. Hamburg und Leipzig. 1887.

$$C\begin{cases}C_6H_5\\C_6H_5\\C_6H_5\\H\end{cases}$$

aus dem durch Einführung dreier Amidogruppen und einer Hydroxylgruppe das farblose Pararosanilin oder Triamidotriphenylkarbinol

$$C\begin{cases}C_6H_4\cdot NH_2\\C_6H_4\cdot NH_2\\C_6H_4\cdot NH_2\\OH\end{cases}$$

wird. Das salzsaure Salz des letzteren ist eins der färbenden Pararosaniline und hat die Zusammensetzung

$$C\begin{cases}C_6H_4\cdot NH_2\\C_6H_4\cdot NH_2\\C_6H_4\\NH_2Cl\end{cases}$$

Die Rosaniline unterscheiden sich dadurch von den Pararosanilinen, dass statt einer der drei Phenylgruppen eine Toluylgruppe (statt C_6H_5 also $C_6H_4 \cdot CH_3$) in das Methan eintritt.

Wie gesagt, sind nur die Pararosanilinverbindungen (Methylviolett, Gentianaviolett, Victoriablau) für die Behandlung nach Gram anwendbar. Der Grund hierfür ist nach Unna die starke Verwandtschaft, welche diese Farbstoffe zu dem Jod besitzen.

Die genannten Farbstoffe muss man aber stets in Gestalt der Ehrlich'schen Lösung, d. h. in Anilinwasser gelöst, zur Anwendung bringen; sonst bekommt man keine Resultate.

Man kann übrigens, wie ich gefunden habe, die Gram'sche Methode resp. meine Modification dieser Methode auch mit der oben (p. 76) bereits erwähnten Unna'schen Antrocknungsmethode combiniren. Speciell für Lepraschnitte habe ich dies mit Vortheil gethan. Die Schnitte werden zu dem Zwecke, nach der maximalen Entfärbung in Alcohol, nicht in Xylol, sondern (entweder direct oder nach vorheriger Behandlung mit Wasser) mit dem Spatel auf den Objectträger gebracht, dort dann nach der Unna'schen Vorschrift angetrocknet und dann in Balsam eingeschlossen.

Auch für Deckglaspräparate kann man die Gram'sche Methode verwenden.[1]) Doppelfärbungen, in der oben (p. 90) ange-

[1]) Ein Beispiel hierfür bildet das Präparat, das dem Photogramm Fig. 7 auf Taf. II zu Grunde liegt.

gebenen Weise unter Anwendung von Picrocarmin hergestellt, geben hier (bei Ausstrichpräparaten von Gewebssaft etc.) oft die schönsten Bilder.

Hervorheben will ich übrigens, dass die Gram'sche Behandlung bei den Bakterien nur den Protoplasmakörper, nie die Kapseln, gefärbt zur Anschauung bringt.

Ausser meiner Modification der Gram'schen Methode sind noch mehrere andere Modificationen angegeben worden, unter denen besonders die oben (p. 76) bereits erwähnte Weigert'sche „Methode zur Färbung von Fibrin und von Mikroorganismen"[1]) sich bewährt und ausgedehnte Anwendung gefunden hat. Weigert färbt den Schnitt in Ehrlich'scher Anilinwassergentianaviolettlösung, spült ihn in Wasser oder Kochsalzlösung ab, bringt ihn dann mit dem Spatel auf den Objectträger, tupft ihn mit Fliesspapier ab, behandelt ihn darauf mit der oben genannten Jodjodkaliumlösung, tupft ihn wieder ab, betropft ihn mit Anilin (Anilinöl), welches die Differenzirung bewirkt und den Schnitt zugleich entwässert (cf. p. 72, Anm. 1). Dann wird das Anilin mit Xylol entfernt und der Schnitt in Balsam eingeschlossen. Das Fibrin, Hyalin etc. werden bei dieser Behandlung intensiv blau, die Mikroorganismen dunkelviolett.

Unna hat empfohlen, die ursprüngliche Gram'sche Vorschrift dahin abgeändert anzuwenden, dass man das Jod nicht als solches der Jodkaliumlösung zusetzt, sondern dass man dasselbe mit Hülfe von Wasserstoffsuperoxyd, welches der Jodkaliumlösung zugefügt wurde, in die Gewebe einführt.

[1]) Fortschr. d. Med. 1887. No. 8.

V.

Allgemeine Methodik der Bakterienzüchtung.

1. Einleitendes.

Wenn es sich darum handelt, Genaueres über irgend welche Bakterien zu erfahren, die sich in der Natur irgendwo uns darbieten, sei es innerhalb des erkrankten Thierkörpers, sei es innerhalb eines bestimmten Trinkwassers oder an irgend einem anderen Orte, so wird man sich in der Regel nicht damit begnügen dürfen, die Bakterien mikroskopisch zu untersuchen; man würde so weiter nichts feststellen können als ihre Form und ihr Verhalten zu Farblösungen und sonstigen Reagentien. Es würde vielmehr durchaus nothwendig werden, die Bakterien zur Vermehrung zu bringen, sie zu züchten, zu cultiviren. Erst die Cultur lässt bei vielen morphologisch gleichen oder sehr ähnlichen Arten Unterschiede der Arten hervortreten, und für die Diagnosticirung einer bestimmten Art ist die Cultur sehr häufig, gewöhnlich, gar nicht zu umgehen.

Es kann nun vorkommen, dass die Natur uns im gegebenen Falle die Bakterien bereits in Reincultur darbietet, d. h. dass sich an dem Fundorte nur einer einzigen Bakterienart angehörige Individuen, unvermischt mit Individuen anderer Arten, vorfinden. In diesem Falle würden wir nichts weiter zu thun haben, als beliebige Theile dieser natürlichen Reincultur auf einen passenden keimfreien, natürlichen oder künstlichen Nährboden zu übertragen; auf diesem Nährboden würde sich die eingesäete Art vermehren, und wir hätten dann durch beliebige Variation der Culturbedingungen Gelegenheit, das Verhalten der Art unter den verschiedensten Bedingungen, mithin ihre Eigenschaften nach allen Richtungen hin, zu studiren. Dieser Fall findet sich z. B. häufig dann, wenn es sich um Thierkrankheiten handelt, die durch die Einwanderung einer bestimmten Bakterienart in den Thierkörper und durch die Vermehrung dieser Art im Blute

des Thieres bedingt sind. Ein jeder Blutstropfen wird dann eine Reincultur der bestimmten Bakterienart enthalten.

In den meisten Fällen liegen jedoch die Dinge so, dass die Natur nicht eine Reincultur, sondern ein Gemisch verschiedener Bakterienarten darbietet. Wollen wir dann Genaueres über diese Arten erfahren, so müssen wir die Arten von einander zu trennen, die einzelnen Arten von einander isolirt in Reincultur zu gewinnen suchen. Ein methodisches, zielbewusstes Vorgehen in dieser Richtung ist erst durch Rob. Koch ermöglicht worden. Koch's Methoden der Reincultivirung der Bakterien sind derart construirt, dass wir jedesmal die verschiedenen Bakterienarten, die sich in einem bestimmten Bakteriengemische vorfinden, in isolirten Reinculturen zu gewinnen im Stande sind, falls nur diese Arten auf dem zur Anwendung gebrachten Nährboden und unter den sonstigen bestehenden Bedingungen überhaupt zu gedeihen vermögen.

Die Zeit vor Koch arbeitete fast ausschliesslich mit flüssigen Nährböden. Koch schuf den durchsichtigen, festen Nährboden. In dieser Umwandlung liegt die Basis der modernen Bakteriologie.

Ist die Aufgabe gestellt, mit Hülfe eines flüssigen Nährbodens die verschiedenen Arten, welche sich in einem Bakteriengemische vorfinden, von einander zu sondern, in isolirten Reinculturen zu gewinnen, so kann dies nur so geschehen, dass man aus dem Bakteriengemische eine einzelne Bakterienzelle herausnimmt und diese, unvermischt mit andern Zellen, in ein beliebiges Quantum des vorher keimfrei gemachten flüssigen Nährbodens überträgt. Hat man wirklich nur eine einzelne Zelle übertragen, ist der Nährboden sicher keimfrei gewesen, so muss jetzt, falls der Nährboden überhaupt passend ist, eine Reincultur gelingen. Aber wie überträgt man eine einzelne Zelle? Man hat dies durch weitgehende Verdünnungen des Bakteriengemisches mit sterilisirtem Wasser zu ermöglichen gesucht. Man ging mit der Verdünnung so weit, dass auf eine abmessbare Menge der Flüssigkeit der Schätzung nach nur ein einzelner Keim kam. Uebertrug man nun diese Menge der Flüssigkeit, so entstand mit Wahrscheinlichkeit eine Reincultur, da man mit Wahrscheinlichkeit nur einen einzelnen Keim übertragen hatte. Wie aber war eine Controle darüber möglich, dass wirklich nur ein einzelner Keim übertragen war, dass ihm nicht mechanisch andere anhingen? Wie war es möglich, die Entwickelung der Cultur aus dem einen Keime mikroskopisch zu verfolgen und es so über alle Zweifel zu erheben, dass man es wirklich mit einer Reincultur zu thun hatte? Alle diese Dinge

boten so unendliche Schwierigkeiten, dass an eine universelle Anwendbarkeit dieser Methode zum Zwecke der Reincultur nicht gedacht werden konnte. Lister war übrigens der Erste, welcher mit Hülfe der beschriebenen Verdünnungsmethode[1]) eine Bakterienreincultur erzielte, nachdem dieselbe vorher schon von Brefeld für Schimmelpilze mit Erfolg angewendet worden war.

R. Koch hatte bei seiner ersten, grundlegenden Arbeit über die Aetiologie des Milzbrandes[2]) ebenfalls nur flüssige Nährböden zur Verwendung. Es gelang ihm hier, mit Hülfe des flüssigen Nährbodens die Entwickelungsgeschichte des Milzbrandbacillus lückenlos darzulegen und an der Hand sicherer Reinculturen seine Pathogenität zu erweisen. Immerhin gehörte das ausserordentliche Geschick eines Koch dazu, die Unzulänglichkeiten des flüssigen Nährbodens zu überwinden und denselben in einwandfreier Weise dem erstrebten Ziele dienstbar zu machen.

Der fundamentale Unterschied zwischen dem flüssigen und dem festen Nährboden ist der, dass der flüssige Nährboden die verschiedenen Bakterienvegetationen, die sich in oder auf ihm bilden, in uncontrolirbarer Weise durch einander gerathen lässt, während dieselben, in festem Nährboden wachsend, vermöge der Consistenz des letzteren an Ort und Stelle isolirt von einander fixirt bleiben. Ist nun der feste Nährboden nebenbei noch durchsichtig, so ist eine makroskopische und mikroskopische Controle der verschiedenen Vegetationen in jedem Augenblicke ermöglicht, und damit die Erzielung von Reinculturen eigentlich vollendet. Wir werden uns deshalb zur Isolirung der Bakterien stets des festen Nährbodens bedienen; flüssige Nährböden können nur in Frage kommen, wenn wir bereits Reinculturen vor uns haben.

Zur Isolirung der Bakterien, zur methodischen Herstellung von Reinculturen sind also feste, durchsichtige Nährböden erforderlich. Solche Nährböden erhält man nach Koch's Vorgang durch Zusatz von gelatinirenden Substanzen zu passenden Nährlösungen. Da die Bakterien je nach den Arten aber verschiedene Ansprüche an den Nährboden stellen, so wird man sich nicht auf eine einzige Nährlösung beschränken dürfen, sondern man muss die Zusammensetzung der Nährlösung je nach dem Bedürfnisse variiren. Koch[3]) construirte sich so verschiedene „Nährgelatinen" durch Zusatz von Gelatine

[1]) Ausführliches hierüber findet man in Hueppe's „Methoden der Bakterienforschung". 4. Aufl. Wiesbaden. 1889. p. 263 ff.

[2]) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1876. p. 277 ff.

[3]) Mitth. aus d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 27, 28.

zu Heuinfus, Weizeninfus, Humor aqueus, Fleischextract- und Peptonlösung, Fleischinfus und Peptonlösung, Blutserum.

Zur Cultivirung von Pilzen sehr geeignet erwiesen sich mit Pflaumendecoct oder Pferdemistdecoct hergestellte Nährgelatinen.

Zur Züchtung von pathogenen Organismen ganz besonders geeignet fanden Koch und Loeffler[1]) eine Nährlösung, welche aus Fleischinfus mit Pepton- und Kochsalzzusatz besteht, und die durch Natriumphosphat oder Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht wird. Diese Pepton-Kochsalz-Bouillon bildet die Basis der wichtigsten Nährböden, welche in dem bakteriologischen Laboratorium heutzutage angewendet werden. In Verbindung mit Gelatine bildet sie den gewöhnlich einfach als „Koch'sche Nährgelatine" bezeichneten Nährboden; in Verbindung mit Agar bildet sie das weiterhin noch zu besprechende „Nähragar", ohne Zusatz wird sie als „Nährbouillon" angewendet.

2. Die Darstellung der wichtigsten bakteriologischen Nährböden. Nährgelatine, Nähragar, Nährbouillon, Blutserum, Kartoffel, Brotbrei.

Die „Nährgelatine" wird folgendermassen dargestellt: Man übergiesst

500 g fettfreies gehacktes oder geschabtes Rindfleisch

mit

1 l destillirtem Wasser

und lässt das Gemisch, nachdem man das Fleisch möglichst gleichmässig in dem Wasser vertheilt und hinterher noch mehrmals umgerührt hat, 12—24 Stunden an einem kühlen Orte stehen. Im Sommer empfiehlt sich hierzu der Eisschrank. Dann giesst man das Gemisch auf ein reines leinenes Tuch, welches über einen grossen Glastrichter hinweggelegt ist, und lässt das „Fleischwasser" hindurchlaufen. Ist die ganze Menge aufgegossen, so kann man die Zipfel des Tuches zusammennehmen und nun durch vorsichtiges Drücken und Pressen des Tuches mit der Hand das Durchfliessen der Flüssigkeit beschleunigen. Man presst so lange, bis man 1 l Fleischwasser erhalten hat. Das Fleischwasser ist eine Lösung der löslichen Substanzen des Muskels, es reagirt in Folge seines Gehaltes an Milchsäure stark sauer.

[1]) Mitth. aus d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 27 und 169.

In dieses Fleischwasser hinein wird nun gegeben:

100 g Gelatine (10 %),
10 g Pepton (Peptonum siccum) (1 %),
·5 g Kochsalz (1/2 %).

Es giebt im Handel viele verschiedene Sorten von Gelatine. Wir verwenden für unsere Zwecke die gute weisse Speisegelatine der Küche, die eine gute Erstarrungsfähigkeit besitzt.

Das Gemisch lässt man zunächst etwas stehen, damit die Gelatine aufquillt, und bringt dasselbe dann bei mässiger Erwärmung (durch Einstellen in warmes Wasser) zur Lösung. Die Erwärmung soll hierbei niemals so weit gehen, dass das Muskeleiweiss beginnt ausgefällt zu werden.

Ist die ganze Menge der Gelatine und des Peptons gelöst, so nimmt man das Neutralisiren des Gemisches vor. Man bedient sich dazu einer concentrirten wässerigen Lösung von Natriumcarbonat, die, zuerst in grösserer Quantität, dann vorsichtiger, tropfenweise, mit Hülfe einer Pipette so lange zugesetzt wird, bis das Lackmuspapier schwache, aber deutliche alkalische Reaction anzeigt.

Dann kommt das, am zweckmässigsten in einem grossen Glaskolben befindliche Gemisch (dem man — behufs der sichereren Klärung bei dem nachfolgenden Erhitzen — jetzt noch das Weisse eines Hühnereies zusetzen kann, welches mit der Flüssigkeit gehörig durchgeschüttelt wird) in den Dampftopf (cf. oben p. 25), wo es 1 bis 2 Stunden der Erhitzung durch den 100 ° C. heissen Wasserdampf ausgesetzt wird. Hierbei werden die aus dem Muskel stammenden (event. auch das zugesetzte Hühnereiweiss repräsentirenden) fällbaren Eiweisskörper aus dem Gemische ausgefällt; sie finden sich dann an den Wänden des Gefässes und auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmend als zusammenhängende Massen vor, während die Flüssigkeit selbst klar erscheint.

Die letztere braucht nun nur noch filtrirt zu werden. Das Filtriren geschieht durch eine doppelte Lage gutes Filtrirpapier hindurch. Man lässt die Flüssigkeit in gut gereinigte sogenannte Erlenmeyer'sche Kölbchen hineinlaufen. Die Gelatine ist jetzt fertig. Sie muss glasklar erscheinen und sich beim Aufkochen nicht trüben; sie muss leicht alkalisch reagiren.

Genügt die Gelatine diesen Anforderungen, so kann sie in Reagenzgläschen eingefüllt werden, in welchen sie dann vorläufig, bis wir sie in Gebrauch nehmen, verbleibt. Nach der Koch'schen Vorschrift werden die zu benutzenden Reagenzgläschen zunächst sauber mit Wasser und Bürste gereinigt, dann an der Luft getrocknet und

nun mit je einem Wattepfropf, der in die Oeffnung fest eingedreht wird, und durch den ein „pilzdichter“ Verschluss des Gläschens herbeigeführt werden soll, versehen. Die Gläschen gelangen dann in einen in den Heissluft- oder Trockenschrank (cf. p. 24) passenden Einsatz von Drahtgeflecht („Drahtkorb“), welcher in den Trockenschrank gestellt wird. Hier werden die Gläschen $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde einer Temperatur von etwa 150° C. ausgesetzt. Sie werden hierbei sammt dem Wattepfropf, der bei dieser Procedur eine leicht bräunliche Färbung (beginnende Verkohlung) annimmt, gründlich sterilisirt.[1])

Nach der Erhitzung lässt man die Gläschen erkalten. Sie sind nun gebrauchsfertig. Man nimmt Gläschen für Gläschen in die Hand, entfernt den Wattepfropf, dessen innerhalb des Röhrchens befindlich gewesenen Theil man sorgfältig vor Berührung mit den Händen und anderen Dingen schützt, und giesst aus dem Erlenmeyer'schen Kölbchen die flüssige Gelatine in einer Menge von je etwa 10 ccm in das vertikal gehaltene Reagenzröhrchen so, dass eine Benetzung des oberen Theiles der Wand des Röhrchens sorgfältig vermieden wird. Verfehlt man dies, so klebt nachher der Wattepfropf an der Wand an und muss dann später losgerissen werden, was immer Unannehmlichkeiten mit sich führt. Nach dem Eingiessen der Gelatine wird der Pfropf wieder aufgesetzt resp. eingedreht, und das Gläschen dann zunächst in das Reagenzglasgestell bei Seite gestellt.

Sind alle Gläschen mit Gelatine beschickt, so kommen sie zusammen in den Einsatz des Dampftopfes und mit diesem für 15—20 Minuten in den Dampf von 100° C. Dann werden sie aus dem Dampftopf entfernt, zur Abkühlung hingestellt, bis zum nächsten Tage stehen gelassen, und gelangen nun von Neuem auf 15—20 Minuten in den Dampftopf. Dies wird dann auch noch ein drittes Mal, 24 Stunden später, wiederholt. Bei dieser Behandlung wird die Gelatine sterilisirt. Der Grund dieser mehrmaligen, unterbrochenen, „discontinuirlichen“ Erhitzung ist folgender: In der Gelatine sind zunächst Keime vorhanden, welche zerstört werden sollen. Die

[1]) Nach dem Vorgange mehrerer anderer Autoren habe ich das Sterilisiren der Reagenzgläser vor dem Einfüllen der Gelatine seit Jahren ganz weggelassen. Ich stelle mir die gut gereinigten und getrockneten Gläschen neben einander auf das Reagenzglasgestell, fülle sie nach der Reihe mit Gelatine, versehe erst jetzt jedes einzelne mit einem (unsterilisirten) Wattepfropf und lasse dann die Sterilisation im Dampf (siehe oben) folgen. Ich habe hierbei niemals einen Misserfolg gesehen. Ebenso verfahre ich bei der Agarbereitung und bei der Bouillonbereitung, ebenso auch, wenn es sich um Kartoffelculturen im Reagenzglase handelt. Für Blutserumröhrchen ist dieses abgekürzte Verfahren natürlich nicht anwendbar; denn Blutserum kann nicht im Dampf sterilisirt werden.

Keime können z. Th. in Form vegetativer Zellen, z. Th. in Form von Dauersporen vorhanden sein. Die ersteren sind durch Erhitzung schnell und leicht zu tödten, die letzteren aber würden zu ihrer Tödtung eines viele Stunden fortgesetzten Kochens benöthigen. Eine so lange auf Siedetemperatur gehende Erhitzung verträgt aber die Gelatine nicht. Die Gelatine hat die Eigenthümlichkeit, durch langdauerndes Erhitzen ihre Erstarrungsfähigkeit mehr und mehr einzubüssen. Wir würden also, wollten wir die Gelatine durch einmaliges Kochen sicher sterilisiren, einen flüssigen Nährboden, und nicht einen festen, den wir haben wollen, erzielen. Man begnügt sich daher zunächst damit, die vegetativen Formen abzutödten. Bis zum nächsten Tage sind dann in der wieder abgekühlten Gelatine die etwa vorhandenen Sporen ausgekeimt, und es sind also jetzt keine Sporen mehr da, sondern nur vegetative Formen, die durch erneutes kurzes Erhitzen wieder leicht und sicher zu tödten sind. Um ganz sicher zu gehen, erhitzt man auch noch ein drittes Mal in dieser Weise. Dann hat man sicher keimfreie Gelatine. Das Princip dieser „discontinuirlichen Sterilisation“ wurde von Tyndall erfunden.

Die Darstellung des Nähr-Agar erfordert ein etwas abweichendes Vorgehen. Das Agar oder Agar-Agar ist eine Pflanzengallerte, von verschiedenen Arten ostindischer Meerestange stammend. Das Agar kommt in Form von Streifen oder von Pulver oder auch von grösseren vierkantigen Stücken, die aus lose zusammenhängender dünner Agarmasse bestehen, in den Handel. Das Agar quillt in Wasser auf, schmilzt aber im Gegensatz zur Gelatine, welche bereits zwischen 25° und 30° C. flüssig wird, erst bei Temperaturen, die der des kochenden Wassers nahe kommen. Die geschmolzene Agarlösung erstarrt dann bei etwa 40° C. wieder. Zur Darstellung des Nähr-Agar geht man wieder von dem Fleischwasser aus, welches man sich in derselben Weise, wie oben (p. 98) bei der Bereitung der Nährgelatine angegeben, darstellt. Man setzt dann zu

1 l Fleischwasser
10 g Pepton (1%) und
5 g Kochsalz (½%).

Diese Mischung bringt man nun zunächst, ohne sie vorher zu neutralisiren, etwa für eine Stunde in den Dampftopf; hier werden die fällbaren Eiweisskörper ausgefällt. Man filtrirt die Flüssigkeit dann durch Filtrirpapier. Zu der Flüssigkeit, welche nun frei ist von durch Hitze ausfällbaren Eiweisskörpern, setzt man

10 bis höchstens 20 g Agar (1 bis höchstens 2%)

entweder in Pulverform oder in kleinen Stückchen, die man durch

Zerschneiden der Streifen etc. gewonnen hat, und bringt nun das Gemisch auf's Neue in den Dampftopf oder auch über die offene Flamme, bis sämmtliches Agar geschmolzen ist. Die homogene Flüssigkeit wird nun mit Hülfe von concentrirter Sodalösung (wie dies [oben p. 99] bei der Gelatine geschah) auf leicht alkalische Reaction gebracht. Dann wird noch einmal gründlich gekocht, am besten mehrere Stunden lang, und dann wird die Masse durch eine doppelte Lage Filtrirpapier, oder, was sehr zweckmässig ist, durch Flanell filtrirt. Hierzu wird man sich stets des Heisswassertrichters bedienen müssen. Man kann auch die Filtration ganz und gar im Dampftopf geschehen lassen. Das Agarfiltriren ist aber ein mühsames Geschäft, da die Agarmasse sehr langsam durch das Filter läuft: und man hat sich deshalb auf andere Weise möglichst klare Agarlösungen zu verschaffen gesucht.

Vielfach angewendet wird ein einfaches Verfahren, welches darauf beruht, dass man die Agarlösung in ein hohes Cylindergefäss giesst und dies so disponirt, dass sich die Lösung nur ganz allmählich abkühlen kann. Recht gut erreicht man dies, wenn man die aus dem Dampftopf kommende 100° C. heisse Agarlösung, nachdem man sie in ein derartiges Gefäss gebracht hat, mit demselben in den Dampftopf zurückstellt, den man nun, ohne ihn weiter zu heizen, der allmählichen Abkühlung überlässt. Es senken sich dann in der Lösung die in ihr suspendirten Praecipitate zu Boden, während die darüber befindliche Lösung mehr und mehr klar wird. Man findet dann nach dem Erstarren eine feste Agarmasse, die in ihren unteren Theilen die Praecipitate einschliesst, während die oberen klar sind. Die Masse wird nun, eventuell durch leichtes Erwärmen des Glases, aus dem letzteren im Ganzen herausgeholt; die trüben Theile des Agarcylinders werden durch einen Messerschnitt von den klaren getrennt, die letzteren zerkleinert, wieder geschmolzen, und dann der so gewonnene fertige Nährboden in einzelne Reagenzgläschen, wie dies bei der Gelatinebereitung geschah, eingefüllt. Darauf erfolgt das Sterilisiren der gefüllten Reagenzgläschen, welches man zweckmässig genau wie das der Gelatineröhrchen, d. h. durch je 15—20 Minuten lange Behandlung im Dampftopf an drei auf einander folgenden Tagen bewerkstelligt.

Für manche Zwecke ausgezeichnet ist ein Zusatz von etwa 6 % Glycerin zu dem Nähragar. Einzelne pathogene Bakterienarten, z. B. Diphtheriebacillen, Streptococcen, gedeihen besser auf dem glycerin- [illegible]rboden als auf dem glycerinfreien; und die Tuberkel- [illegible]achsen sogar auf dem glycerinhaltigen Agar (gewöhnlich [illegible] „Glycerin-Agar“ genannt) ausgezeichnet, während sie auf

gewöhnlichem Agar nur äusserst kümmerlich wachsen. Das Glycerin setzt man bei der Agarbereitung der filtrirten Bouillon (zusammen mit dem Agar selbst) zu; im Uebrigen verfährt man dann, wie oben angegeben.

Das Nähragar unterscheidet sich in mehreren Beziehungen sehr wesentlich von der Nährgelatine. Während die Nährgelatine schon bei Temperaturen wenig über 25 ° C. flüssig wird, zu Züchtungen bei Brüttemperatur also nicht gebraucht werden kann, eignet sich das Nähragar für diese Züchtungen ganz vortrefflich. Ein zweiter wesentlicher Unterschied ist der, dass das Agar kein Eiweisskörper wie die Gelatine, sondern ein den Kohlehydraten nahestehender Körper ist. Das Agar ist also nicht peptonisirbar wie die Gelatine; es wird durch Bakterien, welche die Gelatine verflüssigen (cf. oben p. 33), nicht verflüssigt.

Die Reagenzgläschen lässt man nach vollendeter Sterilisirung entweder in vertikaler Stellung abkühlen, oder aber, und dies empfiehlt sich besonders bei den Agar-Röhrchen, man lässt dieselben in schräger Lage abkühlen, so dass der Nährboden mit einer Oberfläche erstarrt, die mit der Längsachse des Gläschens einen sehr spitzen Winkel bildet. Man hat dann eine möglichst ausgedehnte Oberfläche des Nährbodens für Oberflächenimpfungen zur Verfügung. Beim Erstarren presst das Nähragar Wasser aus („Condensationswasser"), welches sich später in den abhängigen Theilen des Röhrchens ansammelt.

Die Nährbouillon wird in der Weise dargestellt, dass man zu 1 l Fleischwasser, welches, wie oben (p. 98) angegeben, dargestellt ist, 10 g Pepton (1 %) und 5 g Kochsalz (½ %) zusetzt und nach der Auflösung dieser Zusätze die Reaction des Gemisches mit concentrirter Natriumcarbonatlösung schwach alkalisch macht. Hierauf wird (event. nach Zusatz des Weissen eines Hühnereies) 1 bis 2 Stunden im Dampftopf gekocht, filtrirt, die fertige Bouillon dann in einzelne Reagenzgläschen zu je etwa 10 ccm eingefüllt. Die Gläschen werden darauf, genau wie dies bei Gelatine und bei Agar geschah, sterilisirt.

Zum Zwecke der Bereitung des Blutserums als Nährboden für Mikroorganismen verfährt man am besten so, dass man das Blut aus den Adern des Thieres direct in grössere sterile Gefässe (sterilisirte Glascylinder) strömen lässt. Es gelingt dann häufig, das Blut ganz keimfrei aufzufangen.[1]) Man lässt nun das Blut an einem kühlen Orte stehen. Nachdem sich dann das Serum von dem Blutkuchen

---

[1]) R. Koch. Mitth. aus d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884, p. 47.

getrennt hat, wird das Serum mit sterilisirter Pipette abgehoben und in Reagenzgläschen (zu je etwa 10 ccm) eingefüllt, die vorher sammt dem Wattepfropf gut sterilisirt wurden (cf. p. 100). Darauf werden die gefüllten Gläschen in einen doppelwandigen Kasten von Zinkblech gelegt, dessen Boden nicht horizontal, sondern etwas gegen die Horizontale geneigt ist, und in welchem der Zwischenraum zwischen den beiden Wandungen durch Wasser ausgefüllt ist. Die Gläschen liegen hier so, dass das Blutserum mit seiner Oberfläche einen sehr spitzen Winkel mit der Längsachse des Gläschens bildet. In dieser Lage wird nun das Blutserum zur Erstarrung gebracht, und zwar geschieht dies bei einer Temperatur von 65—68 ° C., die man durch Erhitzung des Wassers von der Bodenfläche des Kastens her erreicht. Bei dieser Temperatur erstarrt, wie Koch fand, das Blutserum zu einer durchsichtigen homogenen Masse. Geht man mit der Temperatur höher, über 70 ° C., so kommt keine klare, durchsichtige, sondern eine trübe Masse zu Stande. Die fertigen Gläschen werden nun auf ihre Sterilität dadurch geprüft, dass man sie mehrere Tage bei Brüttemperatur stehen lässt. Zeigen sie dann keine Entwickelung von Bakteriencolonien, so sind sie steril und gebrauchsfähig. Man gebraucht diese Blutserumröhrchen zu Oberflächenimpfungen. Aus diesem Grunde liess man sie auch in schräger Lage erstarren; das Blutserum bietet so eine möglichst grosse Oberfläche dar.

Auch das Blutserum wird unter Umständen mit Zusätzen versehen, z. B. Glycerin. Koch empfahl auch eine Blutserum-Gelatine zu Culturzwecken.

Hat man keine Sicherheit, dass das Blutserum bei der Entnahme aus dem Thierkörper steril aufgefangen wurde, so muss man es, nachdem es zur Erstarrung gebracht wurde, oder auch vorher, besonders sterilisiren. Dies geschieht, indem man die Röhrchen 6 bis 8 Tage lang täglich ein bis zwei Stunden einer Temperatur von etwa 56 ° C. aussetzt. Es findet hier nach demselben Principe, welches wir bei der Gelatine, bei Agar und Bouillon angewendet haben, eine Sterilisirung statt.

In seltenen Fällen wird menschliches Blutserum als Nährboden nothwendig. Nach Bumm's Vorgang gewinnt man dasselbe zweckmässig aus Placenten.[1])

Die bis jetzt besprochenen Nährböden haben wir nach der Bereitung in Reagenzgläschen eingefüllt und können sie nun aufbewahren, bis wir sie benutzen wollen. Der Wattepfropf verhindert das Hinein-

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1885. p. 910.

gelangen von Bakterien- und sonstigen Keimen in den steril gemachten Nährboden, und der letztere bleibt uns also dauernd zur Verfügung — bis er durch Austrocknen, was ganz allmählich erfolgt, unbrauchbar wird.

In ähnlicher Weise kann man sich nun auch die Kartoffel als Nährboden für bakteriologische Zwecke vorräthig halten. Wir werden die hierzu angegebenen Methoden noch besprechen.

Nach der ursprünglichen Methode von Koch macht man die Kartoffel immer erst kurz vor dem Gebrauche zurecht. Man verfährt hierbei so, dass man die Kartoffel [1]) unter dem Strahle der Wasserleitung mit einer harten Bürste, sog. Kartoffelbürste, zunächst mechanisch von allem äusserlich anhaftenden Schmutz, von Erdpartikelchen u. s. w. gründlich befreit. Die Kartoffel stammt aus der Erde, und in der Erde sind, wie wir bereits früher (p. 25) mitgetheilt haben, Bakterienkeime von ganz ausserordentlich grosser Resistenz vorhanden. Diese müssen also zunächst möglichst beseitigt werden.

Die so mit der Bürste gereinigte Kartoffel wird dann einer genaueren Inspection unterzogen; und es werden hierbei mit Hülfe eines gewöhnlichen, in der Küche gebräuchlichen Kartoffelschälmessers („Kartoffelmesser") die Vertiefungen der Kartoffeloberfläche, die „Augen" der Kartoffel, sowie alle etwa schadhaft erscheinenden Theile der Oberfläche ausgekratzt. Man benutzt hierbei die Spitze des Messers, welches man mit seiner Ebene senkrecht zur Kartoffeloberfläche auf die letztere aufsetzt. Wir müssen hierbei soviel der Augen resp. der schadhaften Stellen entfernen, dass von der Kartoffel nur gesundes Gewebe und gesunde Epidermis zurückbleibt. Erstrecken sich grössere krankhafte Stellen in die Kartoffel hinein, so ist die Kartoffel zu verwerfen. Man hüte sich, zu tief in die Kartoffel hinein zu schneiden, weil die Kartoffel hinterher in Sublimatlösung gelegt wird, und eindringendes Sublimat die Kartoffel für Nährzwecke ungeeignet macht. Auch schone man die gesunde Epidermis möglichst.

Ist die Kartoffel mit dem Messer gesäubert, so gelangt sie auf $^1/_2$ bis 1 Stunde in eine $^1/_{10}$ procentige Säuresublimatlösung (1 Sublimat, 5 Salzsäure, 1000 Wasser) [2]) (cf. oben p. 30). Dann

[1]) Nicht alle Kartoffelsorten sind für Culturzwecke gut zu verwenden. Man wählt am besten sogenannte „Salatkartoffeln", die beim Kochen nicht platzen und, in gekochtem Zustande durchschnitten, keine „mehlige", sondern eine feste, glänzende Schnittfläche zeigen.

[2]) Ich halte mir als Stammflüssigkeit eine 5 procentige Sublimatlösung vorräthig (5 g Sublimat, 25 ccm Salzsäure, 75 ccm Wasser). Von dieser Stamm-

wird die Kartoffel aus der Sublimatlösung herausgenommen und, nachdem sie in den Einsatz des Dampftopfes gelegt worden ist, mit demselben auf $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden [in den Dampftopf gebracht. Hier wird die Kartoffel gar gekocht und zugleich endgültig sterilisirt.

Nun wird der Einsatz aus dem Dampftopf herausgenommen und zunächst zur Abkühlung hingestellt. Ist die Abkühlung einigermassen erfolgt, so werden die einzelnen Kartoffeln mit 2 oder 3 Fingern der in Sublimatlösung getauchten linken Hand aus dem Einsatz herausgenommen und mit Hülfe eines in der rechten Hand gehaltenen, zunächst „ausgeglühten" (cf. p. 24) und darauf wieder erkalteten Kartoffelmessers durchschnitten, um dann sofort in eine (noch zu beschreibende) feuchte Kammer gelegt zu werden. Bei dem Herausnehmen der Kartoffeln mit Hülfe der „Sublimatfinger" aus dem Einsatz des Dampftopfes hat man zunächst darauf zu sehen, dass die Kartoffeln nicht mehr als nöthig mit Sublimatlösung beträufelt werden. Dann ist zu beachten, an welchen Stellen die Kartoffel ergriffen werden soll. Wir wollen die Kartoffel nachher durchschneiden, und die hierbei entstehenden Schnitthälften sollen sich gut so hinlegen lassen, dass die Schnittflächen nach oben sehen. Die Kartoffel muss also, wenn wir auf ihre gewöhnlich ellipsoide Gestalt die für die Erde gebräuchlichen Bezeichnungen anwenden, äquatorial durchschnitten, also an den Polen mit den Fingern angefasst werden.

Die durchschnittene Kartoffel wird nun mit der linken Hand in die feuchte Kammer so gelegt, dass die beiden Schnitthälften von einander getrennt und die Schnittflächen nach oben gerichtet sind. Die feuchte Kammer besteht aus einem Paar geräumiger Glasschalen (Doppelschale), deren obere über die untere hinübergreift und als kappenartiger Deckel dient. Die untere hat c. 20 cm lichten Durchmesser und etwa 6 cm Höhe. Der Boden der inneren, unteren Schale ist mit einem kreisförmigen Stück Fliesspapier bedeckt, welches mit $^1/_{10}$ proc. Sublimatlösung befeuchtet ist. Nach dem Einlegen der Kartoffeln wird die Deckelschale aufgelegt; man lässt dann die Kar-

---

flüssigkeit nehme ich 20 ccm und fülle dieselben mit Leitungswasser bis zu 1 l auf: So erhalte ich die $^1/_{10}$ procentige Lösung für den Gebrauch. — Zur Prüfung darauf, ob eine Sublimatlösung genügende Quantitäten Sublimat gelöst enthält, bedient man sich nach R. Koch (Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 278) sehr bequem der Kupfer-Reaction. Ein mit Schmirgelpapier blank geputztes Streifchen Kupferblech wird in die zu prüfende Lösung hineingebracht. Bildet sich innerhalb einer halben Stunde ein deutlicher Quecksilberüberzug, so enthält die Lösung mindestens 1 : 5000 Sublimat. Eine $^1/_{10}$ procentige Lösung giebt die Reaction schon innerhalb einer Minute deutlich.

toffeln gründlich abkühlen und kann sie dann in der weiterhin zu besprechenden Weise impfen.

Will man gekochte Kartoffeln zu Culturzwecken vorräthig halten, so kann man nach v. Esmarch[1]) so verfahren, dass man die rohen Kartoffeln schält, abspült, in Scheiben schneidet und diese Scheiben in kleine gläserne Doppelschälchen (von 5 bis 6 cm Durchmesser) legt, die zuvor im Trockenschrank sterilisirt sind. Die so armirten Schälchen werden auf etwa $^3/_4$ Stunden in den Dampftopf gestellt, dann herausgenommen und bis zur späteren Benutzung aufbewahrt.

Andere Methoden bereiten die Kartoffel innerhalb des mit Wattepfropf verschlossenen Reagenzglases zur Cultur vor. Auf solchen Kartoffeln angelegte Culturen sind vor Verunreinigungen durch fremde Keime ganz sicher geschützt, während dies nicht von Kartoffelculturen gilt, die nach den zuerst besprochenen Methoden angestellt werden. Methoden der Kartoffelcultur im Reagenzglase haben Bolton[2]), Globig[3]), Roux[4]) angegeben. Globig und Roux verwenden Kartoffelkeile, welche durch diagonale Durchschneidung von Kartoffelcylindern hergestellt werden, die man mit dem Korkbohrer aus der Kartoffel aussticht. Globig verwendet bereits gekochte, Roux rohe Kartoffeln. In beiden Fällen gelangen die Kartoffelkeile dann, mit dem breiten Ende voran, in ein Reagenzglas, welches durch einen Wattepfropf verschlossen wird. Da sich bei dem nachfolgenden Kochen resp. Sterilisiren Condensationswasser bildet, so lässt Roux die Kartoffel auf einer in der Nähe des Bodens des Reagenzglases befindlichen verengerten (eingezogenen) Stelle der Wand des Glases aufruhen, während Hueppe[5]) hierzu ein Stück Watte benutzt, welches auf den Boden (des in gewöhnlicher Weise geformten) Reagenzglases gebracht wird. Durch beide Vorrichtungen wird die Berührung der Kartoffel mit dem Condensationswasser verhindert. Ich benutze zu diesem Zwecke kleine, kurze Glasröhrchen, auf denen der Kartoffelkeil seinen Stützpunkt findet. Hat man bereits gekochte Kartoffeln für die genannte Methode in Verwendung gebracht, so folgt nach dem Verschluss des Glases mit Watte die Sterilisirung, welche wie bei der Gelatine- etc. Bereitung vorgenommen wird. Hat man rohe Kartoffeln verwendet, so müssen die Kartoffelkeile erst gekocht, dann noch gründlich sterili-

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 1.
[2]) Med. News. 1887. vol. 1. No 12.
[3]) Zeitschr. für Hygiene. Bd. 3. 1887. p. 298.
[4]) Annales de l'inst. Pasteur. 1888. No. 1.
[5]) Die Methoden der Bakterienforschung. 4. Aufl. 1889. p. 234.

sirt werden. Zu dem Zwecke stellt man die Gläschen zunächst für 45 Minuten in den Dampftopf und wiederholt die Dampfbehandlung an den beiden nächstfolgenden Tagen je 15—20 Minuten lang.

Die Kartoffel hat gewöhnlich eine leicht saure Reaction. Für gewisse Zwecke (z. B. zur Züchtung von Tuberkelbacillen) ist es nothwendig, die Kartoffeloberfläche (durch Sodalösung) schwach alkalisch zu machen.

Zur Züchtung von Schimmelpilzen benutzt man mit Vortheil Brotbrei. Um denselben herzustellen, füllt man getrocknetes und zerriebenes Brot in Reagenzgläser bis etwa zur Höhe von 3 bis 4 cm ein. Man giebt dann soviel Wasser hinzu, dass das Brot völlig durchfeuchtet wird, verschliesst das Röhrchen mit einem Wattepfropf und erhitzt nun behufs der Sterilisation an drei auf einander folgenden Tagen je 15 bis 20 Minuten im Dampftopf. Der Brotbrei reagirt sauer, ist also für Bakterien kein passender Nährboden.

3. Die wichtigsten Methoden der Bakteriencultur.

Zur Isolirung der einzelnen Arten aus einem Bakteriengemische bedient man sich jetzt fast ausschliesslich der Koch'schen Plattenculturmethode.[1]) Diese Methode setzt einen gelatinirenden Nährboden voraus, der im flüssigen Zustande mit dem Bakterienmaterial so beschickt wird, dass sich die einzelnen Keime möglichst gleichmässig in ihm vertheilen, der dann auf einer möglichst grossen Fläche ausgebreitet und dort zur Erstarrung gebracht wird. Dann sind die eingesäeten Keime örtlich fixirt und kommen zu isolirter Entwickelung. Als Nährboden kommt meist die gewöhnliche Nährgelatine (cf. oben p. 98) zur Verwendung. Nach der ursprünglichen Koch'schen Vorschrift verfährt man hierbei folgendermassen:

Es wird ein Reagenzglas, welches c. 10 ccm sterilisirte Nährgelatine enthält („Gelatineröhrchen"), genommen und sein unterer Theil über der Flamme leicht erwärmt, so dass die Gelatine schmilzt. Ist hierbei die Gelatine zu heiss geworden, so muss sie bis etwa zur Handwärme wieder abgekühlt werden. Nun wird das Gläschen so zwischen Daumen und Zeigefinger der mit dem Handteller nach oben gerichteten ausgestreckten linken Hand gesteckt, dass der Wattepfropf nach oben sieht. Mit der rechten Hand wird der letztere zunächst durch Drehen gelockert, dann heraus gezogen

[1]) Das Princip dieser Methode hat Koch zuerst angegeben in den Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 27. Zeile 25—29 und p. 36. Zeile 11—14.

und zwischen den zweiten und dritten Finger der linken Hand so geklemmt, dass der im Glase befindlich gewesene Theil des Pfropfes von den Fingern nicht berührt wird.

Nun wird die Gelatine „inficirt“. Das Inficiren geschieht mit Hülfe eines Platindrahtes, welcher etwa 6—7 cm lang, nicht zu dünn, und an einem etwa 20 cm langen Glasstabe angeschmolzen ist. Von derartigen Platindrähten hält man sich mehrere vorräthig. Einzelne sind geradlinig gestreckt; bei anderen ist das Ende zu einer etwa 2 mm im Durchmesser haltenden kreisförmigen Oese gebogen („Platinöse“). Je nachdem man nun ein Material vor sich hat, welches ausserordentlich reich an Bakterien ist (wie z. B. die Kahmhaut auf der Oberfläche eines faulenden Pflanzeninfuses), oder welches weniger reich an Bakterienkeimen ist (wie z. B. käufliche rohe Milch), nimmt man entweder mit der Spitze oder mit der Oese etwas von dem zu untersuchenden Material und bringt es in die Gelatine. An der Spitze nämlich bleiben stets erheblich geringere Quantitäten des Materials haften als an der Oese. Bevor man die Platindrähte benutzt, werden sie in dem Flammenmantel des Bunsenbrenners oder in der Spiritusflamme ausgeglüht, dann wieder erkalten gelassen.

Der inficirte Platindraht resp. die Platinöse werden in das Gelatineröhrchen so eingeführt, dass man eine Berührung der Wand des Gläschens mit dem Bakterienmateriale oberhalb der Gelatine möglichst vermeidet. Das ganze Material soll in die Gelatine gelangen und nicht etwa zu einem grösseren oder geringeren Theile am Glase hängen bleiben. Das Material wird dann durch Agitiren mit dem Platindrahte möglichst gleichmässig in der Gelatine vertheilt. Hat man consistenteres Material vor sich, welches sich nicht so leicht gleichmässig vertheilen lässt, so empfiehlt es sich, dasselbe dicht oberhalb der Gelatine an der Glaswand unter Zuhülfenahme kleiner Mengen Gelatine mit Hülfe des Platindrahtes zu zerreiben und dann durch Bewegen des Röhrchens in die Gelatine hineinzuspülen.

Wir haben nun eine Portion Gelatine inficirt, wir haben das Bakteriengemisch, welches wir untersuchen wollen, möglichst sorgfältig in der Gelatine zer- und vertheilt, so dass die einzelnen Bakterienzellen möglichst aus einander liegen. Wir könnten nun, wie das nachher auch geschehen soll, die inficirte Gelatine auf eine sterile Glasplatte in möglichst dünner Schicht ausgiessen, und wir würden dann nach der Erstarrung der Gelatine, d. h. also nach der örtlichen Fixirung der einzelnen Bakterienkeime, aus diesen einzelnen Bakterienkeimen isolirte Colonien entstehen sehen.

Nun aber bringt es die Kleinheit der Bakterien mit sich, dass

auch die kleinste Menge des Bakteriengemisches, die wir mit Hülfe des Platindrahtes in die Gelatine übertragen, gewöhnlich noch Tausende und aber Tausende von Zellen enthält. Es würden auf unserer Platte also ebenso viele Colonien zur Entwickelung gelangen, und diese würden dann so dicht gedrängt liegen müssen, dass kaum von einer isolirten Beobachtung derselben die Rede sein könnte, geschweige denn von einer weiteren Manipulation mit den einzelnen Colonien. Aus diesem Grunde begnügt man sich nie mit dem einen inficirten Glase, sondern man macht ohne Weiteres von diesem Glase „Verdünnungen".

Zu dem Zwecke bringt man ursprünglich nicht nur in einem, sondern gleich in drei Gelatineröhrchen die Gelatine zum Schmelzen. Ist das erste Röhrchen („Original") mit der Bakterienmasse inficirt, so stellt man sofort ein zweites, noch steriles Röhrchen neben das erste, also ebenfalls zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, entfernt den Wattepfropf, klemmt diesen nun zwischen dritten und vierten Finger der linken Hand und überträgt dann eine Anzahl Platinösen (gewöhnlich drei) der inficirten Gelatine des Originalglases in das zweite Glas („Erste Verdünnung"). Nach gehöriger Vertheilung dieser drei Oesen in der Gelatine des zweiten Gläschens wird das Originalglas mit dem zugehörigen Wattepfropf verschlossen, beiseite gestellt, und es werden dann aus dem zweiten Gläschen wiederum drei Oesen Gelatine in das dritte, noch sterile Gläschen übertragen („Zweite Verdünnung").

Vorher bereits hat man sich die drei Platten, auf die man die Gelatine der drei Gläschen ausgiessen will, zurecht gelegt. Die Platten sind von nicht zu dickem Glase, rechteckig und messen etwa 8 : 13 cm. Sie müssen sorgfältig sterilisirt sein, ehe sie zur Benutzung kommen. Das Sterilisiren bewirkt man am besten in dem Trockenschrank (cf. p. 24). Die Platten werden zu dem Zwecke, rein geputzt und getrocknet, in grösserer Anzahl auf einander gelegt und in eine Tasche von starkem Eisenblech, die mit übergreifendem Deckel versehen ist, geschoben. Diese Tasche wird dann während etwa $^3/_4$ Stunden in dem Trockenschranke einer Temperatur von 160° C. oder darüber ausgesetzt. Nach dem Abkühlen werden drei von den Platten, die man aber nur an den Kanten berühren darf, aus der Tasche herausgenommen und nun über einander auf eine horizontal eingestellte Platte von starkem Glase gelegt, welche die Bedeckung einer mit Wasser und Eisstücken voll angefüllten Glasschale bildet (Koch's Giessapparat). Das Eiswasser kühlt die Glasplatten ab. Ueber die Platten wird eine Glasglocke gestülpt, welche das Auffliegen von Luftkeimen auf die Platten verhindert.

Verfügt man über einen Trockenschrank nicht, so kann man die Platten auch sehr bequem dadurch sterilisiren, dass man sie, indem man sie mit den Fingern an den Kanten festhält, beiderseits in der Gas- oder Spiritusflamme stark erhitzt. Man lässt sie dann unter einer Glasglocke abkühlen.

Wir gehen jetzt daran, unsere drei inficirten Gelatineröhrchen auf die zurechtgelegten, durch Eis abgekühlten Platten auszugiessen. Zu dem Zwecke nehmen wir zunächst das „Original"-Röhrchen in die rechte Hand, entfernen den Wattepfropf, den wir sofort in eine Schale mit Desinfectionsflüssigkeit[1]) werfen. Wir bringen dann das schräg gehaltene Röhrchen mit seiner Mündung mehrere Secunden lang in die Flamme, indem wir es durch Bewegung mit den Fingern schnell um seine Achse rotiren lassen. Dabei wird der Rand des Gläschens „abgeglüht", die dort befindlichen, aus der Luft zufällig aufgefallenen Keime werden „abgebrannt". Wir müssen dies thun, um diese Keime nicht nachher beim Ausgiessen mit auf die Platte zu bekommen. Nachdem der Rand des Gläschens wieder abgekühlt ist, wird nun der über die Platten gestülpte Deckel (die Glasglocke) des Giessapparates mit der linken Hand in die Höhe gehoben, und es wird nun die inficirte Gelatine des Originalglases in einem Zuge auf die Mitte der obersten Platte ausgegossen. Unmittelbar darauf sorgt man für möglichste Flächenausbreitung der Gelatine dadurch, dass man dieselbe mit dem Rand des Röhrchens direct auf der Platte ausstreicht und vertheilt. Die Gelatine soll hierbei überall etwa 1 cm vom Rande der Platte entfernt bleiben; denn den Rand resp. die Kanten der Platte haben wir mit den Fingern berührt und werden wir weiterhin noch berühren. Diese Theile sind also nicht als steril zu betrachten; sie würden uns fremde Keime auf unsere Platte bringen.

Nun wird der Deckel wieder auf den Giessapparat aufgesetzt; das seiner Gelatine entledigte Röhrchen kommt in die Desinfectionsflüssigkeit (s. oben).

Innerhalb des Bruchtheils einer Minute ist dann die Gelatine erstarrt. Die Platte wird nun nach Lüftung des Deckels, indem man sie an den Kanten erfasst, von den darunter liegenden Platten weggenommen und in querer Lage auf ein etwa $5^1/_2$ cm breites, 14 cm langes Glasbänkchen gelegt, welches aus einer Glasplatte von den angegebenen Dimensionen und zwei unter die Enden derselben

---

[1]) Hierzu eignet sich besonders gut eine etwa 5procentige wässerige Lösung der oben (p. 30) angegebenen rohen Schwefelcarbolsäure; auch die bereits (p. 105) genannte Salzsäuresublimatlösung lässt sich verwenden.

mit Siegellack festgekitteten vierkantigen Glasklötzchen (von etwa $5\frac{1}{2}$ cm Länge, 1 cm Breite, 7 mm Höhe) hergestellt ist. Zwischen Glasbänkchen und Platte legt man einen Papierzettel, welcher die genaue Bezeichnung des Platteninhaltes und das Datum enthält. Man hat sich gewöhnt, die Originalplatte mit „0“, die erste Verdünnung mit „I“, die zweite mit „II“ zu bezeichnen. Das Bänkchen wird dann mit der Platte in die feuchte Kammer gestellt, die man sich ebenso herstellt, wie wir es oben (p. 106) für die nach der ursprünglichen Koch'schen Methode hergestellten Kartoffelculturen angegeben haben.

Nun wird das zweite Röhrchen, die erste Verdünnung, auf die zweite auf dem Giessapparat liegende Platte, in derselben Weise wie vorher das Originalröhrchen, ausgegossen, dann nach dem Erstarren der Gelatine die Platte auf ein bezeichnetes Bänkchen gelegt und das letztere auf das Bänkchen der Originalplatte in die feuchte Kammer gestellt. In derselben Weise wird auch das dritte Röhrchen behandelt, und das dritte Bänkchen schliesslich auf das zweite Bänkchen in die feuchte Kammer gestellt. Die letztere bleibt nun bei Zimmertemperatur stehen. Am günstigsten ist im Allgemeinen für die Gelatineculturen eine Temperatur von 18—20° C.

Haben die Plattenculturen 24 Stunden bei den angegebenen Temperaturen gestanden, so zeigt die Originalplatte gewöhnlich schon bei der Betrachtung mit blossem Auge eine mehr oder weniger auffallende Trübung; und bei schwacher Vergrösserung sieht man dann gewöhnlich äusserst zahlreiche, sehr kleine, mehr oder weniger rundliche, dichtstehende dunkle Flecken, von denen jeder eine Colonie repräsentirt, die aus einem einzelnen Keime hervorgegangen ist. An den Verdünnungsplatten sieht man dann gewöhnlich makroskopisch noch nichts; aber in den nächsten Tagen, wenn das Wachsthum mehr vorgeschritten ist, kommen hier die isolirten Colonien schon makroskopisch zur Geltung. Man sieht dann oft ohne Weiteres schon mit blossem Auge, dass man es nicht mit einer einzigen Bakterienart zu thun hat, sondern dass auf der Platte verschiedenartige Keime zur Entwickelung gelangt sind. Denn ein verschiedenartiges Aussehen der Colonie berechtigt natürlich ohne Weiteres zu dem Schlusse, dass es sich um verschiedene Arten handelt.

Wir sehen hier z. B. eine Colonie, die als weisses Häufchen erscheint, welches auf der Gelatineoberfläche aufsitzt; eine andere Colonie characterisirt sich als ein mehr flächenhaft ausgebreitetes irisirendes Häutchen, welches die Oberfläche der Gelatine überzogen hat. Dann fällt uns eine andere Colonie durch ihre lebhafte (z. B. gelbe oder rosa) Färbung auf. Alle diese Colonien haben die um-

gebende Gelatine intact gelassen. Andere haben die Gelatine an der Stelle ihres Wachsthums verflüssigt; bei der einen Colonie ist diese Verflüssigung stärker, bei der anderen weniger stark ausgesprochen. So finden wir schon makroskopisch hier und da Unterschiede der verschiedenartigen Organismen, welche zur Entwickelung auf der Platte gelangt sind. Wir werden uns aber nicht begnügen, die Untersuchung makroskopisch vorzunehmen; wir legen vielmehr unsere Platte auf den Objecttisch des Mikroskopes und mustern sie mit schwachem System. Nach den oben (p. 47 ff.) gegebenen Auseinandersetzungen über die mikroskopische Beleuchtung werden wir hierbei den Abbe'schen Apparat durch enge Blende abblenden müssen.

Bei der mikroskopischen Betrachtung der Platte kommen nun morphologische Eigenschaften der Colonien zu unserer Kenntniss, von denen wir vorher nichts gesehen haben. Zunächst ist ein allgemeiner Unterschied zwischen solchen Colonien zu machen, welche innerhalb der Gelatine liegen, und solchen, die sich an der Oberfläche befinden oder bei ihrem Wachsthum die Oberfläche erreicht haben. Während die ersteren sich als mehr oder weniger rundliche dunkle Gebilde darstellen, zeigen die letzteren eine viel grössere Mannichfaltigkeit in ihrer Gestalt. Abgesehen von der verschiedenen räumlichen Ausdehnung sehen wir z. B. characteristische Unterschiede der Colonien in der Gestaltung des Randes. Die einen haben einen ganz glatten, die anderen einen mehr buckeligen, unregelmässig gekerbten Rand. Andere zeigen eine deutlich lockenförmige Gestaltung des Randes, gebildet von in zierlichen Windungen neben einander herlaufenden Zügen von Bacillenfäden; andere senden weite, fadenförmige Ausläufer aus; bei anderen erscheint der Rand der kreisrunden Colonie wie mit feinsten Stacheln besetzt. So giebt es die mannichfachsten Unterschiede in der Gestaltung, und jeder Unterschied deutet sofort auf eine Verschiedenartigkeit der Keime, aus denen die Colonien entstanden sind.

Fig. 21 auf Taf. IV zeigt eine Stelle aus einer Plattencultur, welche mit Heustaub angelegt wurde, nach zweitägigem Wachsthum, bei 25facher Vergrösserung. Wir sehen da links oben mehrere kleinere Colonien, die als dunkle Flecken erscheinen; mehr nach rechts hinüber liegen mehrere grössere Colonien von ähnlichem Aussehen, die sich z. Th. decken; alle diese Colonien gehören wahrscheinlich Bakterien an. Dazwischen aber sehen wir zwei Schimmelpilzcolonien ihre zarten Mycelien aussenden. Wir sehen diesen Colonien es ohne Weiteres an, dass sie nicht Bakterien, sondern Fadenpilzen angehören; denn wir können hier bei 25facher Vergrösserung (das Photogramm wird

man zweckmässig mit der Loupe betrachten) bereits die beiden Contouren der überall gleichstarken Mycelfäden deutlich unterscheiden. Diese Gebilde sind viel dicker, als ein einzelner Bacillenfaden es sein würde, und, zögen mehrere oder viele Bacillenfäden neben einander her, die in ihrer Gesammtdicke einem solchen Pilzmycelfaden entsprechen würden, so würden wir an einzelnen Stellen dünnere, an anderen Stellen dickere Gebilde (je nach der Menge der zusammenliegenden Bacillenfäden verschieden) sehen müssen. Die doppeltcontourirten, überall gleichstarken Fäden, welche wir bereits bei so schwachen Vergrösserungen deutlich sehen, lassen stets mit Bestimmtheit auf Fadenpilze schliessen.

Eine andere Plattencultur ist in Fig. 22 (Taf. IV) dargestellt, und zwar in natürlicher Grösse. Wir sehen hier eine grössere Anzahl von Colonien, welche sämmtlich dem in der Erde vorkommenden, sogenannten „Wurzelbacillus" angehören. Einzelne Plattencolonien bei schwacher Vergrösserung zeigen Fig. 29, Taf. V (Milzbrandbacillus), ferner Fig. 58, Taf. X (Cholerabacillus). Die erstere ist bei 40facher, die zweite bei 100facher Vergrösserung dargestellt. Man sieht das fundamental verschiedenartige Wachsthum dieser beiden Organismen in der Plattencolonie.

Will man eine Colonie bei stärkerer Vergrösserung (mit starkem Trockensystem oder mit der Immersion) direct untersuchen, so muss man auf die Platte ein Deckglas auflegen und die Platte nun wie ein gewöhnliches mikroskopisches Präparat behandeln. Auf die spätere weitere Benutzung der Colonie zur Entnahme von Material behufs der Weiterzüchtung etc. muss man dann allerdings verzichten. Auf Taf. XII, Fig. 71, ist ein auf diese Weise mit starkem Trockensystem gewonnenes Bild dargestellt.

Ist das Wachsthum der Plattencultur noch nicht zu weit vorgeschritten, so gelingt es meist, sich recht schöne Situsbilder der oberflächlichen Colonien dauernd zu fixiren in Form der sogenannten Klatschpräparate (Contactpräparate).[1] Verflüssigende Arten eignen sich hierzu allerdings nur so lange, als die Verflüssigung noch nicht augenfällig geworden ist, so lange die Gelatine in dem Bereiche der Colonie noch nicht eigentlich verflüssigt ist, höchstens etwas weicher zu werden beginnt.

Ueberhaupt eignen sich junge Colonien besser als alte für diese Präparation.

Um sich ein solches Klatschpräparat darzustellen, legt man ein

[1]) cf. R. Koch. Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 54.

rein geputztes Deckglas mit der Pincette auf die Platte auf, lässt es einen Augenblick los und nimmt es dann mit Hülfe der Pincette von der Gelatineoberfläche wieder herunter. Man hat dann einen Abklatsch der oberflächlichen Colonien auf dem Deckglase. Nachdem man ein solches Präparat recht sorgfältig hat lufttrocken werden lassen, fixirt man es in gewohnter Weise in der Flamme, färbt es wie ein gewöhnliches Trockenpräparat und schliesst es in Balsam ein. Man bekommt so nicht allein dauernde Bilder von der Lagerung der Organismen zu einander innerhalb der Colonie, man erhält so überhaupt die klarsten, distinctesten Bilder der einzelnen Bakterienzellen. Die diesem Buche beigegebenen Photogramme sind zum Theil nach solchen „Klatschpräparaten" hergestellt. Speciell will ich auf Fig. 31 (Taf. VI) aufmerksam machen. Hier haben wir ein Klatschpräparat von Milzbrandbacillenfäden bei 1000facher Vergrösserung. Das Präparat stellt den Abklatsch einer Plattencultur dar, welche auf Taf. V, Fig. 30, bei 40facher Vergrösserung abgebildet ist. (Diese Plattencultur ist nach Strichimpfung des Bacillenmaterials auf sterile, auf die Platte ausgegossene und dann erstarrte Gelatine [cf. unten p. 122] entstanden). Die feinen Locken der Cultur Fig. 30 lösen sich in Fig. 31 in die deutlich gegliederten Bacillenfäden auf.

Kehren wir nun zu unserer Plattencultur, in welcher sich aus den in der Gelatine vertheilten Keimen einzelne, isolirt liegende Colonien entwickelt haben, zurück. Würden wir dieselbe sich selbst überlassen, so würden mit weiterschreitendem Wachsthum die Colonien allmählich mit ihren Grenzen an und in einander gerathen, und dann wäre es mit der Isolirung der Colonien vorbei. So sehen wir denn auch auf den Originalplatten, wo die Colonien gewöhnlich äusserst dicht gedrängt liegen, derartige Zustände in der Regel eintreten. Eine solche Platte bietet nach wenigen Tagen bereits ein undefinirbares Chaos von Bakteriencolonien dar. Sind dann verflüssigende Arten unter den eingesäeten Bakterien, so fliesst die Gelatine gewöhnlich nach mehreren Tagen vom Glase herunter: „Die Platte ist verflüssigt" und damit definitiv unbrauchbar.

Die Verdünnungen aber lassen wir so weit nicht kommen. Nachdem wir die Colonien zunächst bei schwacher Vergrösserung untersucht, uns dann von der oder jener Colonie ein Präparat im hängenden Tropfen resp. ein gefärbtes Trockenpräparat angefertigt haben, um uns durch Betrachtung bei starken Vergrösserungen weitere Aufschlüsse über die Colonien zu holen, benutzen wir diejenigen Colonien, die uns aus irgend welchem Grunde interessiren, so lange sie noch isolirt in

der Gelatine liegen, dazu, von ihnen Material zu entnehmen, um dieses in geeigneter Weise weiter zu züchten. Da die Colonie auf der Platte eine Reincultur war, so müssen jetzt auch die davon weiter gezüchteten Culturen Reinculturen repräsentiren.

Die Weiterzüchtungen werden gewöhnlich im Reagenzglase vorgenommen („Reagenzglasculturen"). Hat man das Material einmal in reinem Zustande auf den im Reagenzglase befindlichen Nährboden gebracht, so sorgt dann der Watteverschluss des Glases dafür, dass die Cultur rein bleibt. Die Reagenzglasculturen eignen sich also vor allem dazu, eine Sammlung lebender Bakterienreinculturen dauernd im Stand zu erhalten.

Die gebräuchlichste Form der Reagenzglascultur ist die Gelatine-Stichcultur. Um eine solche Cultur mit dem Material einer bestimmten Plattencolonie anzulegen, verfährt man auf folgende Weise: Es wird zunächst die Colonie unter dem Mikroskope bei schwacher Vergrösserung, wie oben (p. 113) auseinandergesetzt, eingestellt. Man überzeugt sich, dass die Colonie auch thatsächlich isolirt liegt, dass sie ein homogenes, concentrisch gewachsenes Ganzes repräsentirt, dass nicht etwa eine Nachbarcolonie ihre Grenzen ganz in die Nähe vorgeschoben oder gar Theile der Colonie verdeckt hat. Von einer Colonie, die die letzteren Charactere zeigt, dürften wir nichts zur Weiterzüchtung entnehmen, da hier keine Bürgschaft für die Uebertragung thatsächlich reinen Materials vorhanden wäre. Haben wir aber eine Colonie gefunden, die genügend isolirt innerhalb der klar durchsichtigen, d. h. sterilen, Gelatine liegt, so suchen wir nun, ohne die Platte von dem Objecttische zu entfernen, mit blossen Augen festzustellen, welches die eingestellte Colonie ist. Es gelingt dies stets ohne Schwierigkeiten, wenn man central über der oberen Linse des Abbe'schen Beleuchtungsapparates die dort vorhandenen Colonien mit dem Auge aufsucht, ihre gegenseitige Lagerung, ihre Grössenverhältnisse etc. berücksichtigt.

Nachdem man dann den Tubus in die Höhe geschraubt hat, geht man, ohne die Platte zu verschieben, mit einem ausgeglühten und wieder erkalteten Platindraht (mit gerade endender Spitze) auf die Colonie zu und entnimmt von ihr, aber nur von ihr, eine Spur mit der Spitze des Platindrahtes. Dieses Entnehmen des Materiales von der Platte bezeichnet man als „Fischen". Man nimmt nun ein Reagenzglas mit erstarrter Nährgelatine, bringt es zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand so, dass die Oeffnung des Glases nach der Volarseite hin gerichtet ist, entfernt durch Drehen den Wattepfropf, bringt ihn in der oben (p. 109) geschilderten Weise zwischen 2. und 3. Finger der linken Hand und sticht nun, während man das

Gläschen mit der Oeffnung nach unten gekehrt hält, den inficirten Platindraht unter vorsichtiger Vermeidung der Berührung der Glaswandungen central in die Gelatine hinein, bis nahe an den Boden des Glases. Man geht dann auf demselben Wege wieder aus der Gelatine heraus, glüht den Draht aus, stellt ihn bei Seite, bringt den Wattepfropf wieder auf das Reagenzglas und bezeichnet nun das letztere durch ein Etikett, welches in der Nähe der Oeffnung des Glases angeklebt wird, und welches die näheren Daten über das „eingestochene" Material und das Datum angiebt.

Nun überzeugt man sich durch Herunterschrauben des Tubus und nochmalige mikroskopische Einstellung der vorher eingestellt gewesenen Plattenstelle davon, dass auch wirklich Material von der in der optischen Achse liegenden Colonie entnommen wurde. Dieselbe muss einen deutlich sichtbaren Defect zeigen. Die Nachbarcolonien müssen unverletzt sein.

Die Verschiedenheiten der Form, welche wir bei den Plattencolonien gefunden haben, zeigen sich nun auch in entsprechender Weise bei der Form der Stichculturen wieder. Auch hier haben wir wieder die Unterschiede zwischen solchen Arten, die die Gelatine solide lassen, und solchen, die sie verflüssigen. Unter den ersteren finden wir solche, die im ganzen Bereiche des „Impfstiches" gleich kräftig wachsen, andere, die besonders in den oberen Theilen desselben gedeihen. Die eine Art bildet halbkugelige Häufchen, nimmt nur einen kleinen Theil der Gelatineoberfläche in Anspruch; die andere hat die Tendenz, sich oberflächlich gleich in grösserem Masse auszubreiten, ein dünnes Häutchen zu bilden. Unter den verflüssigenden Arten verflüssigen die einen sehr langsam und allmählich die Gelatine, andere schneller, noch andere ausserordentlich rasch. Farbstoffproducirende Arten zeigen manchmal im ganzen Verlaufe des Impfstiches ebenso wie an der Oberfläche der Gelatine Farbstoffproduction; andere Arten bilden nur an der Oberfläche Farbstoff, wachsen im ganzen Impfstiche farblos; noch andere endlich wachsen an der Oberfläche farblos, während sie im Impfstiche Farbstoff produciren. In den Stichculturen findet man also das verschiedenartigste Verhalten, ebenso wie es auf der Platte der Fall war. Zu nennen ist hier ferner die Eigenthümlichkeit vieler Arten, Gas zu produciren. Auf der Platte kommt diese Eigenschaft kaum zum Ausdruck; an der Stichcultur aber können wir dieselbe meist sehr deutlich constatiren: die Gelatine bekommt mehr oder weniger ausgedehnte Risse, welche von dem Impfstiche ausgehen.

Gelatine- Stichculturen sind abgebildet auf Taf. VI, Fig. 33; Taf. IX, Fig. 52; Taf. X, Fig. 59 und 60; man bemerkt hier ohne Weiteres

die augenfälligen Unterschiede in der Gestaltung der Stichcultur bei den verschiedenartigen Organismen.

Eine andere Form der Reagenzglasculturen ist die Oberflächen-Strichcultur. Hier wird das Material nicht in die Gelatine eingestochen, sondern oberflächlich, gewöhnlich in einem einzigen, sehr dünnen Striche, auf den Nährboden aufgestrichen („Impfstrich"). Am besten bedient man sich dazu solcher Röhrchen, in denen der Nährboden (Gelatine, Agar, Blutserum) in schräger Lage zur Erstarrung gebracht worden ist (cf. oben p. 103). Ferner eignen sich hierzu die sterilisirten Kartoffelkeile, welche in Reagenzgläschen eingeschlossen sind (cf. oben p. 107). Hat man nicht verflüssigende Arten vor sich, so kann man sie auf schräg erstarrter Gelatine oder auf Blutserum ausstreichen. Bei verflüssigenden Arten empfiehlt sich dies natürlich nicht; man nimmt hier zweckmässig den nicht zu verflüssigenden Agar-Nährboden oder die Kartoffel. Eine oberflächliche Strichcultur auf Gelatine zeigt Taf. VIII, Fig. 48. Hier ist der (nicht verflüssigende) Typhusbacillus auf die schräg erstarrte Gelatine aufgestrichen worden. Taf. IV, Fig. 24, zeigt eine Strichcultur auf Agar, welche mit dem (die Gelatine verflüssigenden) „Wurzelbacillus" angelegt wurde. Um das Bild deutlicher zu machen, habe ich diese Cultur nicht im Reagenzglase, sondern auf einer sterilisirten Glasplatte angelegt, auf die der Agar-Nährboden im geschmolzenen Zustande ausgegossen worden war. Selbstverständlich würde die Gestalt der Cultur innerhalb des Reagenzglases genau ebenso geworden sein.

Ebenso wie auf festen Nährboden kann man natürlich auch auf flüssige sterile Nährböden, die im Reagenzglase unter Watteverschluss enthalten sind, das reine Material der Plattencolonie übertragen. Speciell empfiehlt sich für pathogene Organismen hierzu die oben (p. 103) erwähnte Nährbouillon. Man wählt die „Bouilloncultur" besonders gern dann, wenn es sich um die Darstellung grösserer Mengen reinen Culturmaterials handelt, die für irgend welche Zwecke gebraucht werden sollen.

Auch in Reagenzgläser mit sterilisirter Milch, mit sterilisirtem Urin, mit bestimmten chemischen Nährlösungen etc. kann man das Material aus der Plattencolonie übertragen.

So wie man diese Weiterzüchtungen aber im Reagenzglase vornehmen kann, so kann dies natürlich auch in beliebiger anderer Weise geschehen, z. B. auf den nach der ursprünglichen Koch'schen oder nach der Esmarch'schen Methode präparirten Kartoffeln (cf. p. 105, 107). Die Kartoffeln inficirt man am besten mit Hülfe eines Skalpells, welches ausgeglüht wurde und wieder erkaltet ist, und mit dessen in das Bakterien-

material getauchter Spitze man das Material in die Kartoffelfläche einreibt. Die nach Koch'scher Weise präparirte Kartoffel wird hierbei mit „Sublimatfingern“ (cf. p. 106) festgehalten. Bei dem Inficiren der Kartoffel bleibt man mit dem inficirenden Skalpell gern 1 cm vom Rande der Kartoffel entfernt, da Verunreinigungen der Cultur, die von der Kartoffel selbst ausgehen, gewöhnlich am Rande der Kartoffel sich zuerst zeigen. Hierher gehören z. B. die die Kartoffelculturen so oft verderbenden „Kartoffelbacillen“, welche aus Sporen entstehen, die der Kartoffel äusserlich anhafteten und bei der Sterilisirung derselben nicht getödtet wurden.

Ferner kann die Uebertragung von der Platte in einen hängenden Tropfen (von Bouillon oder von Gelatine) hinein geschehen, der ebenso präparirt wird, wie oben (p. 43) angegeben, nur dass man ein steriles Deckglas (durch starkes Erhitzen in der Flamme sterilisirt) und steriles Material für den Tropfen selbst wählt. Die sich entwickelnde „Cultur im hängenden Tropfen“ gestattet, die Wachsthumserscheinungen der Bakterien unter dem Mikroskope direct zu verfolgen.

Die ursprüngliche Koch'sche Plattenculturmethode ist nun mannichfach modificirt worden. Zunächst ist hier ein Verfahren zu nennen, welches manche Vortheile vor dem ursprünglichen Koch'schen Verfahren darbietet, und welches von Petri[1]) stammt. Petri nimmt keine Glasplatten als Träger des Nährbodens, sondern an Stelle dieser runde Glasschälchen von 10—11 cm Durchmesser und 1—1,5 cm Höhe. Jedes Glasschälchen wird durch ein etwas grösseres, als Deckel dienendes ähnliches Schälchen vor Staub etc. geschützt. Die Doppelschälchen werden, rein geputzt, auf einander gestellt, im Trockenschrank sterilisirt und können nach dem Erkalten benutzt werden. Ein besonderer „Giessapparat“ wie bei dem Koch'schen Verfahren ist hier nicht nöthig. Die Gelatine wird einfach eingegossen, die Schale zugedeckt und dann sich selbst überlassen. Diese Methode wird jetzt sehr viel, häufiger als die ursprüngliche Koch'sche, angewandt. Es ist aber zu bemerken, dass die mikroskopische Untersuchung derartiger Schälchenculturen etwas weniger bequem ist als die der Koch'schen Platten.

Eine andere Modification der ursprünglichen Koch'schen Plattenmethode hat v. Esmarch[2]) angegeben. Die Gelatine wird hierbei weder auf Platten noch in Schälchen ausgegossen, sondern an der Innenwand des Reagenzröhrchens, in dem sie sich befindet, direct ausgebreitet. Man bewerkstelligt dies so, dass man nach

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 9.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886.

der Inficirung der geschmolzenen Gelatine den Wattepfropf in das Röhrchen soweit hineinstösst, dass er vollständig im Glase verschwindet, dass man dann eine Gummikappe über die Oeffnung des Röhrchens herüberzieht, die einen wasserdichten Abschluss bewirkt, und dass man nun das Röhrchen horizontal auf die Oberfläche sehr kalten (event. Eis-) Wassers legt und dann das Röhrchen mit den Fingern in gleichmässige schnelle Rotation versetzt. Die Gelatine wird dann bald fest und überzieht das Glas an seiner Innenfläche mehr oder weniger gleichmässig. Nachher wird das Röhrchen aus dem Wasser herausgenommen, die Gummikappe entfernt, das Röhrchen etikettirt und zur Entwickelung der Colonien hingestellt. Diese „Rollröhrchen", „Rollplatten" sind am besten von allen Plattenculturen gegen die Verunreinigung durch fremde Keime geschützt. Haben sich die isolirten Colonien innerhalb der „ausgerollten" Gelatine entwickelt, so kann man sie sowohl mikroskopisch untersuchen (durch die Glaswand hindurch)[1], als auch, unter Benutzung eines an der Spitze gekrümmten Platindrahtes, von ihnen Material zur Anlage weiterer Culturen entnehmen. Eine derartige Rollplatte (oder wenigstens einen Theil von ihr) zeigt Fig. 23 auf Taf. IV. Dieselbe wurde mit Gartenerde angelegt. Man sieht hier im Centrum mehrerer Colonien noch die schwarzen Erdbröckelchen, von denen das Wachsthum ausgegangen ist.

Die bis jetzt genannten Methoden der Plattencultur haben alle das Gemeinsame, dass sie zur Anlage einer jeden einzelnen Cultur ein besonderes Gelatineröhrchen brauchen. Kommt es Einem im gegebenen Falle auch nur auf die die Verdünnungen enthaltenden Culturplatten an, so ist man doch genöthigt, zunächst ein „Original"-Röhrchen zu inficiren, um von diesem wieder Verdünnungsröhrchen anzulegen. Eine Methode, welche Soyka[2]) angegeben hat, vereinfacht die Procedur und spart Material. Soyka empfiehlt Doppelschälchen zur Anlage der Plattenculturen, welche den Petri'schen im Allgemeinen ähnlich sind, sich aber dadurch von ihnen unterscheiden, dass in die untere 7 bis 8 oder mehr Vertiefungen (wie bei den hohlgeschliffenen Objectträgern) eingeschliffen sind. In jede der Ver-

[1]) Um das mikroskopische Bild bei dieser Gelegenheit besser zu gestalten, als es die gekrümmte Aussenfläche des Reagenzglases an und für sich zulässt, habe ich an der zu untersuchenden Stelle einen Tropfen Cedernöl auf die Glaswand gebracht und auf diesen ein Deckglas, dessen freie Oberfläche in senkrechte Richtung zur optischen Achse des Mikroskopes gebracht wird. Man bekommt so naturgemäss vortreffliche Bilder der Colonien. — Einen zweckmässigen Reagenzglashalter für die Rollplatten zum Aufsetzen auf den Objecttisch hat v. Sehlen (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. 7. 1890) angegeben.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1888. No. 43.

tiefungen kommt eine kleine abgemessene Quantität geschmolzener Gelatine. Die Gelatine in einer der Vertiefungen wird dann mit dem in das Ausgangsmaterial getauchten Platindraht inficirt, und die weiteren Verdünnungen werden dann durch Uebertragung von Material aus einer Vertiefung in die andere bewerkstelligt. Die Gelatine lässt man dann erstarren. Man hat so auf einer Platte alle Verdünnungen und hat sehr an Material gespart.

Diesem sehr zweckmässigen Soyka'schen Verfahren schliesst sich ein Verfahren an, welches der Verf. zur Reincultivirung, zur Isolirung von Bakterien häufig benutzt, und welches ebenfalls darauf gerichtet ist, Gelatine zu sparen resp. einen möglichst geringen Apparat für den einzelnen Versuch nothwendig zu haben. Ich bringe mir zunächst auf eine sterile Glasfläche (einen stark erhitzten und wieder erkalteten Objectträger oder die Innenfläche des Deckels eines sterilisirten Petri'schen Schälchens, welches nachher für die Plattencultur zur Verwendung kommen soll) 4—5 einzelne, isolirt liegende Tropfen steriler Bouillon oder sterilen Wassers, inficire dann den ersten Tropfen mittels des Platindrahtes mit dem zu untersuchenden Materiale, glühe den Draht aus, tauche ihn nach dem Erkalten in den ersten Tropfen wieder ein und übertrage die kleine anhaftende Menge in den zweiten Tropfen. Von diesem aus inficire ich auf dieselbe Weise den dritten, von diesem den vierten, und ebenso auch eventuell einen fünften Tropfen je nach dem Bakterienreichthum des Ausgangsmateriales. Von dem letzten Tropfen übertrage ich dann eine Oese in ein Röhrchen geschmolzener Nährgelatine und giesse die letztere dann, wie oben (p. 111) beschrieben, in ein Petri'sches Schälchen aus. Habe ich die Innenfläche des Deckels des Schälchens zur Anlage der Verdünnungen benutzt, so hat derselbe während dieser Zeit umgekehrt auf dem Schälchen gelegen und so das Schälchen vor dem etwaigen Hineingelangen von Luftkeimen behütet. Die während der Entwickelung der Cultur an dem Deckel hängenden Tropfen schaden der Cultur natürlich durchaus nichts.

Anstatt der Gelatine kann man auch Agar zu Plattenculturen benutzen; und bei Organismen, welche erheblich besser und schneller bei Brüttemperatur wachsen als bei Zimmertemperatur, wird man mit Vorliebe zu dem Agar greifen. Nur ist hier ein besonders geschwindes Operiren durchaus geboten. Wie wir oben (p. 101) bereits erwähnten, schmilzt das Nähragar erst bei Temperaturen, die der Siedetemperatur des Wassers nahe liegen. Geschmolzen muss aber jeder Nährboden werden, mit welchem wir eine Platte anlegen wollen. Nach dem Schmelzen wird das Agar abgekühlt bis etwas über

40 ° C. Bei dieser Temperatur ist das Agar gerade noch flüssig und doch schon kühl genug, dass man Bakterien ohne Gefahr für ihre weitere Entwickelungsfähigkeit einsäen kann. Nun muss man möglichst schnell das Material eintragen, vertheilen und dann die Verdünnungen machen, um hinterher den Nährboden gleich in Petri'sche Schälchen auszugiessen.

Auch für Agarplatten hat sich mir meine, der Soyka'schen nachgebildete Verdünnungsmethode bewährt.

Ehe Koch seine Plattenmethode erfand, benutzte er die Nährgelatine in etwas anderer Weise zur Isolirung der Keime. Er inficirte nämlich den Platindraht und strich denselben dann mit der Spitze über die Oberfläche von Nährgelatine, welche auf einem sterilisirten Objectträger in dünner Schicht ausgegossen war. Neben einander wurden so eine Anzahl „Impfstriche“ gemacht. Die Mehrzahl der dem Draht anhaftenden Keime blieb natürlich schon beim ersten Striche an der Gelatine hängen, der zweite Strich erhielt schon weniger Keime; und bald kam bei den nächstfolgenden Strichen ein Zeitpunkt, wo nur hier und da ein einzelner Keim sitzen blieb. Die Objectträger wurden dann in die feuchte Kammer gestellt. Mit Hülfe dieser „Objectträgerculturen“ erzielte Koch die ersten isolirten Reinculturen aus Bakteriengemischen. [1]) Diese Methode ist aber durch das Plattenverfahren fast vollständig verdrängt worden. Eine Plattencultur, welche nach dem genannten Principe angelegt wurde, zeigt Taf. V, Fig. 30 (cf. oben p. 115).

Will man Bakterienculturen conserviren, so muss man sie, sobald das Wachsthum eine gewisse Höhe erreicht hat, so disponiren, dass eine Verdunstung der in dem Nährboden enthaltenen Feuchtigkeit sowie die Möglichkeit der Verunreinigung dauernd ausgeschlossen wird. Man erreicht dies dadurch, dass man die Culturgefässe gegen die Atmosphäre luftdicht abschliesst. Das letztere geschieht entweder durch sorgfältiges Verkitten der Deckel etc. mit Paraffin oder durch Zuschmelzen der Oeffnungen der Gefässe. Das letztere lässt sich aber gewöhnlich nur bei Reagenzglasculturen bewerkstelligen. Um den Ausbau der hierher gehörigen Methoden haben sich besonders verdient gemacht Soyka[2]), Soyka und Král[3]), Král[4]), Czaplewski[5]). Man kann sich nach diesen Methoden sehr

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 25—27.
[2]) Centr. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 18.
[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888.
[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1889.
[5]) Centr. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 15.

schöne Sammlungen bakteriologischer Culturen anlegen („bakteriologische Museen"). Die Culturen behalten unter luftdichtem Verschluss sehr lange Zeit ihre Uebertragbarkeit bei.

Man hat auch versucht, Culturen in festem Nährboden in Form des mikroskopischen Präparates zu conserviren. Handelt es sich um Plattenculturen, so muss die zu conservirende Stelle mit dem Messer umschnitten und dann zwischen Objectträger und Deckglas eingeschlossen werden. Derartige Methoden haben Garrè[1]), Plaut[2]), Lipez[3]), Jacobi[4]) sowie der Verf.[5]) angegeben. Handelt es sich um Reagenzglasculturen, so muss die die Cultur enthaltende Gelatine zunächst gehärtet und dann in Schnitte zerlegt werden. Solche Methoden haben Fischl[6]) und Neisser[7]) publicirt.

Die bisher besprochenen Culturmethoden, speciell die Plattenmethode, gehen von der Voraussetzung aus, dass wir solche Organismen zu untersuchen haben, welche an der Luft zu wachsen vermögen. Wir haben nun früher bereits (p. 20) gesehen, dass es eine grosse Reihe von Bakterienarten giebt, denen dies Vermögen abgeht, die im Gegentheil durch die Gegenwart freien Sauerstoffs in ihrer Entwickelung gehemmt werden. Es sind dies die sogenannten Anaëroben (auch „obligate", „strenge" Anaëroben genannt). Haben wir solche Organismen zu züchten, so kann dies natürlich nicht in der gewöhnlichen Weise auf der Platte geschehen; denn der atmosphärische Sauerstoff, welcher zu der Platte ungehinderten Zutritt hat, würde ein jedes Wachsthum von vornherein inhibiren. Will man derartige Organismen zum Wachsthum, zur Vermehrung bringen, so muss man den atmosphärischen Sauerstoff von dem Orte, an dem das Wachsthum geschehen soll, sorgfältigst fernhalten.

Nach verschiedenen Principien kann dies geschehen. Mann kann den inficirten Nährboden in einen Raum bringen, der nachher luftleer gepumpt wird; oder man kann, nach Buchner[8]), aus dem Raume, in welchem der inficirte Nährboden resp. das Culturgefäss (z. B. eine nach Esmarch angelegte Rollplatte) steht, den Luftsauerstoff fortschaffen durch alkalische Lösung von Pyrogallol

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1886. No. 12.
[2]) Fortschr. d. Med. 1886. No. 13.
[3]) Centr. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 13.
[4]) Centr. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 17.
[5]) Deutsche med. Woch. 1889. No. 20.
[6]) Fortschr. d. Med. 1887. No. 20.
[7]) Centr. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 16.
[8]) Centr. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 5.

(1 g Pyrogallol, 1 ccm Liqu. Kal. caust., 10 ccm Wasser), welche bekanntlich ein ausserordentlich sauerstoffgieriges Medium ist.[1]) Man kann aber den Luftsauerstoff resp. die atmosphärische Luft auch entfernen, indem man in den den Nährboden umgebenden Raum genügend lange Zeit Wasserstoff einleitet, indem man eventuell sogar durch den Nährboden selbst (bei Gelatine vor der Erstarrung) Wasserstoff durchleitet. Wird nachher ein sicherer Verschluss nach aussen hin hergestellt (durch Zuschmelzen der Glasgefässe, durch Verkitten der Oeffnungen mit Paraffin) so gedeihen die Anaëroben in ausgezeichneter Weise in dieser Wasserstoffatmosphäre[2]).

Es ist an dieser Stelle darauf hinzuweisen, dass man nicht etwa Kohlensäure zur Verdrängung des Luftsauerstoffs benutzen darf. Es hat sich, besonders durch umfassende Untersuchungen, die C. Fraenkel[3]) angestellt hat, gezeigt, dass die Kohlensäure, wie für andere Organismen, so auch für die Bakterien ganz allgemein ein Gift ist, und dies sowohl für Aëroben wie Anaëroben. Der Wasserstoff

---

[1]) Diese vortreffliche Buchner'sche Methode ist jüngst von Nikiforoff (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890) zur Cultivirung der Anaëroben im hängenden Tropfen verwendet worden. Nikiforoff umstreicht die Höhlung des hohlgeschliffenen Objectträgers wie gewöhnlich (cf. oben p. 43) mit Vaselin und drückt dann das mit dem geimpften (inficirten) Tropfen versehene Deckglas (cf. oben p. 119) so auf diesen Objectträger, dass die Höhlung des letzteren an einer Stelle nicht völlig vom Deckglase verschlossen wird. Diese freigelassene Stelle wird nun an ihrem einen Ende mit starker wässeriger Pyrogallollösung (mit Hülfe einer Platinöse) betupft, während an das andere Ende ein Tröpfchen Kalilauge gebracht wird. Sodann wird durch Verschiebung des Deckgläschens die Höhlung des Objectträgers völlig verschlossen. Es mischen sich dann die beiden Reagentien mit einander; sie bleiben an der Berührungsstelle von Objectträger und Deckglas hängen, kommen mit dem Culturtropfen nicht in Berührung.

[2]) Bezüglich der vielfachen hierfür angegebenen Methoden verweise ich im Allgemeinen auf Hueppe's „Methoden der Bakterienforschung". 4. Aufl. 1889. p. 314 ff. — Eine höchst einfache Methode der Wasserstoffbenutzung hat Fuchs (Dissert. Greifswald. 1890) angegeben. Siehe hierüber Loeffler (Centr. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 20. p. 635): „Die Methode besteht darin, dass das besäete Röhrchen umgedreht, und nachdem einige Minuten hindurch Wasserstoff mit einem Glasrohr eingeleitet worden ist, mit einem Gummistopfen von unten her fest verschlossen wird. Der Gummistopfen kann zur Vorsicht noch paraffinirt werden." — Blücher (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890) cultivirt Anaëroben auf der Platte (Petri'sches Schälchen), auf Kartoffeln etc. unter einer Glasglocke, in welche Wasserstoff eingeleitet wird, und deren Inneres durch eine wässerige Glycerinlösung (1 Glycerin + 3 bis 4 Wasser) gegen die äussere Luft abgesperrt wird. — Botkin (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890) hat ein ähnliches Verfahren angegeben, bei welchem Paraffinum liquidum als Absperrflüssigkeit verwandt wird.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1888.

ist jedoch, wie für andere Organismen, so auch für die Bakterien ein völlig indifferentes Gas.

Von Plattenculturen kann man den Luftsauerstoff nach Koch[1]) dadurch fernhalten, dass man auf die Gelatine etc. ein dünnes Glimmerplättchen, welches vorher durch Ausglühen sterilisirt wurde, auflegt. Dasselbe muss natürlich eine grössere Ausdehnung besitzen. Unter demselben kommen die Anaëroben zur Entwickelung. Das geschilderte Verfahren lässt sich auch sehr gut zur Prüfung des Sauerstoffbedürfnisses bestimmter neu aufgefundener Arten benutzen.

Sehr bequem zur Züchtung der Anaëroben, wenn auch zur Isolirung der Keime aus einem Gemische weniger brauchbar, ist eine andere Methode, bei welcher der Sauerstoff der atmosphärischen Luft von der Cultur durch darübergeschichtetes festes Nährsubstrat abgeschlossen wird. Nach diesem einfachen Principe kann man z. B. aus Reinculturen von Anaëroben Stichculturen in jedem Gelatineröhrchen anlegen. Man sticht das Material in der gewöhnlichen Weise mit dem Platindraht tief in die Gelatine ein und sieht nachher in den tieferen Schichten der Gelatine, zu denen der atmosphärische Sauerstoff keinen Zutritt hat, bis etwa $1^1/_2$ cm von der Gelatineoberfläche entfernt, von dem Impfstiche das Wachsthum der anaëroben Cultur ausgehen, während in den oberen Schichten der Gelatine, die mit dem atmosphärischen Sauerstoff in Berührung sind, jedes Wachsthum unterbleibt. Man kann auch das Bakterienmaterial in geschmolzener Gelatine vertheilen und die Gelatine dann wieder erstarren lassen. Man beobachtet dann in den unteren Partien der Gelatine die Entwickelung mehr oder weniger von einander isolirter Colonien. Eine solche Cultur zeigt z. B. Fig. 38 auf Taf. VII.

Es empfiehlt sich zur Cultur anaërober Organismen den Nährböden gewisse reducirende Substanzen zuzusetzen. Das Wachsthum erfolgt dann schneller. Liborius[2]) fand einen Zusatz von 2 % Traubenzucker zu der Nährgelatine wachsthumsbeschleunigend, Kitasato und Weyl[3]) haben jüngst für den gleichen Zweck einen Zusatz von 0,3—0,5 % ameisensaurem Natron zu Nähragar empfohlen.

Die Culturen der Bakterien, aërober sowohl wie anaërober, können nun, mag es sich um Platten- oder Reagenzglasculturen oder um Kartoffelculturen in der feuchten Kammer handeln, bei den ver-

[1]) Deutsche med. Woch. 1884. p. 502.
[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 168.
[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 43.

schiedensten Temperaturen gezüchtet werden. Die gebräuchlichsten sind die Zimmertemperatur (c. 18° C.) und die Brüt-(Blut-) Temperatur (c. 35—38° C.). Gelatineculturen eignen sich natürlich nicht zur Züchtung bei Brüttemperatur, da die Gelatine schon bei 25° C. sehr weich und bei wenig höherer Temperatur flüssig wird. Bei 22° C. kann man dagegen die Gelatineculturen noch sehr gut halten. Und bei dieser Temperatur zeigen auch fast alle diejenigen Organismen, die am besten bei Brüttemperatur gedeihen, d. h. die für Warmblüter pathogenen, noch Wachsthum. Für Züchtungen bei Brüttemperatur nimmt man Agar, Bouillon, Blutserum, Kartoffeln. Die Nährböden kommen hierbei am besten in Reagenzröhrchen resp. in Petri'schen Schälchen (bei Agarplatten) eingeschlossen zur Verwendung; denn irgend welche Verunreinigungen der Cultur machen sich bei Brüttemperatur gleich in viel ausgedehnterem Masse geltend als bei Zimmertemperatur, und die genannten Dispositionen schützen die Nährböden am besten vor Verunreinigungen. Ist das Wachsthum der zu züchtenden Art ein sehr langsames, so ist ein langer Aufenthalt in dem künstlich auf Brüttemperatur erwärmten Raume (Brütschrank, Brütofen) nothwendig, und dabei trocknen dann die Nährböden gern allmählich ein. Besonders ihre Oberfläche wird dann bald so wasserarm, dass sie das Bakterienwachsthum nicht mehr gestattet. Man muss dann von vornherein für einen luftdichten Verschluss des Culturgefässes sorgen. Nothwendig wird dies z. B. bei der künstlichen Züchtung der Tuberkelbacillen auf Blutserum, auf Glycerinagar. Man überzieht dann die Oeffnung des Reagenzglases, nachdem man den Wattepfropf tief hineingestossen hat, mit einer Gummikappe. Würde man dies aber ohne besondere Vorsichtsmassregeln thun, so würden sich die an dem Wattepfropf aussen aufsitzenden, aus der Luft stammenden Keime in der geschaffenen feuchten Kammer baldigst zu entwickeln beginnen, und es würden nun namentlich die Pilzmycelien die Poren des Pfropfs durchwuchern und die Cultur, deren Züchtung wir beabsichtigten, verderben resp. gar nicht zu Stande kommen lassen. Deshalb geht man in solchen Fällen so vor, dass man den mit der Pincette gefassten Wattepfropf zunächst äusserlich in der Flamme abbrennt, um alle anhaftenden Keime zu vernichten, dann ihn in den erhitzten Hals des Röhrchens hineinschiebt und schliesslich eine Gummikappe überzieht, welche stundenlang in Sublimatlösung gelegen hat.

Der Brütschrank, dessen man sich zu Culturzwecken bedient, (Brütofen, Wärmeschrank, Vegetationskasten, Thermostat) kann verschieden construirt sein. Wesentlich ist ein abge-

schlossener, gegen Wärmeabgabe nach aussen möglichst gesicherter Raum, dessen Inneres auf constanter Temperatur erhalten wird. Im Koch'schen Institute[1]) sind für diesen Zweck doppelwandige, aussen mit Filz bekleidete Kästen von verbleitem Eisenblech[2]) in Gebrauch, die mit einer vorn angebrachten Doppelthür versehen sind. Zwischen den beiden Wandungen des Kastens befindet sich Wasser, in welchem auf der einen Seite ein aussen ablesbares Thermometer, auf der anderen ein (noch zu besprechender) Thermoregulator steht. Der ganze Kasten steht auf vier Füssen und wird erwärmt durch eine besondere Sicherheits- (Gas-) Lampe, zu der das Gas durch den Thermoregulator hindurch gelangt. Die Lampe ist so eingerichtet, dass bei zufälligem Verlöschen der Flamme (durch vorübergehendes Absperren der Leitung etc.) der Hahn automatisch geschlossen wird.

Der Thermoregulator besteht aus einem starkwandigen, weiten, langen, vertikal stehenden Glasrohr, welches unten geschlossen und in der Mitte durch eine horizontale gläserne Scheidewand abgetheilt ist, die central eine enge, nach unten sich in ein offenes Glasrohr fortsetzende Oeffnung besitzt. Der Raum unterhalb der Scheidewand ist beinahe vollständig mit Quecksilber angefüllt, welches durch das erwähnte Glasrohr in den oberen Raum gelangen kann. Auf dem unteren Quecksilberhorizont schwimmen mehrere Tropfen Aether. Der ganze Apparat steht in dem auf bestimmte Temperatur zu erwärmenden Wassermantel des Thermostaten. Je mehr nun durch die Flamme das Wasser erhitzt wird, desto mehr dehnen sich die Aetherdämpfe aus; dabei wird das Quecksilber mehr und mehr aus dem unteren Raume in den oberen Raum hinaufgedrückt. Das Leuchtgas tritt nun in den oberen Raum hinein durch ein vertikal stehendes, dünnes, eisernes, in einer Stopfbüchse verschiebbarés Rohr, welches (in verstellbarer Höhe) über dem oberen Quecksilberhorizonte mündet. Es tritt aus, um zu der Flamme zu gelangen, seitlich neben dem eisernen Rohre aus der Wand des Thermostaten. Erreicht nun mit zunehmender Erwärmung das obere Quecksilberniveau das Ende des eisernen Rohres, so wird die Oeffnung desselben verschlossen, und die Flamme würde sofort verlöschen, wenn nicht ein feiner vertikaler Schlitz in dem Rohre noch ein wenig Gas durchtreten liesse. Die Flamme wird also nur erheblich reducirt. Hat sich dann das Wasser wieder etwas abgekühlt, so tritt das Quecksilber wieder zurück, lässt das Gas wieder voll aus-

[1]) C. Fraenkel, Grundriss d. Bakterienkunde. 2 Aufl. 1887. p. 132.
[2]) Haltbarer, aber erheblich theurer, sind kupferne Brütschränke.

strömen u. s. f. Da das eiserne Rohr verstellbar ist, so kann man den Apparat auf beliebige Temperaturen (natürlich in gewissen Grenzen) einstellen, die dann constant bleiben.[1])

Hat man keine Gasleitung und keinen Thermoregulator zur Verfügung, so kann man seinen Brütapparat sehr gut mit einer Petroleumlampe heizen. Koch[2]), welcher bei seinen ersten, grundlegenden Untersuchungen über Milzbrand sich dieser Methode bediente, empfiehlt dieselbe auf das Wärmste.

4. Anhang: Die Methoden der bakteriologischen Luft-, Wasser- und Boden-Untersuchung und ihre wichtigsten Ergebnisse.

a. Luftuntersuchung.

In der uns umgebenden Luft finden wir stets Keime von Mikroorganismen. Es finden sich da sowohl Bakterienkeime wie Keime von Schimmelpilzen und von Hefen. Dieselben gelangen dadurch in die Luft, dass sie von dem Substrate, auf welchem sie sich entwickelt haben, durch Luftströmungen entfernt werden. Natürlich kann dies nur geschehen, wenn die Cultur eingetrocknet ist. So lange der Nährboden und die Cultur feucht sind, ist gewöhnlich keine Möglichkeit vorhanden, dass sich Theilchen der Cultur in die Luft erheben. Die geringen Lebensansprüche vieler Bakterienarten bringen es nun mit sich, dass allenthalben in der Natur, wo etwas Feuchtigkeit vorhanden ist, Bakterien zu wachsen vermögen. Vertrocknet eine Bakteriencolonie, wird sie durch zufällige Berührungen zerkleinert, in Staub verwandelt, so genügt der geringste Luftstrom, die Stäubchen davonzuführen, um sie an irgend welchem anderen Orte abzusetzen.

Die für die Untersuchung der Luft auf Bakterien angegebenen Methoden sind sehr zahlreich. Will man nur qualitative Aufschlüsse über die Keime haben, kommt es Einem nur darauf an, zu ermitteln, welchen Arten die in einer bestimmten Luft enthaltenen Keime angehören, so empfiehlt sich die zuerst von Koch[3]) geübte „Absitzmethode“. Man bedeckt den Boden eines sterilisirten Glasschälchens mit geschmolzener Nährgelatine und lässt nach der Erstarrung der Gelatine das Schälchen offen an dem Orte stehen,

---

[1]) Der beschriebene Thermoregulator stammt im Principe von Bunsen und Lothar Meyer; H. Rohrbeck hat ihn in der angegebenen, für die Praxis sehr zweckmässigen Weise hergestellt.

[2]) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1876. p. 282.

[3]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 33.

dessen Luft man untersuchen will. Die Keime setzen sich dann auf der Gelatineoberfläche ab. Nach bestimmter Zeit wird dann das Schälchen geschlossen, und die Keime müssen sich nun oberflächlich auf der Gelatine entwickeln, sobald sie überhaupt fähig sind, auf diesem Nährboden und in Gegenwart des Luftsauerstoffs zu wachsen. Koch setzte die Schälchen auf den Grund eines cylinderförmigen Glasgefässes und mit diesem erst der Luft aus. Die Luft innerhalb des Cylinders ist von den äusseren Luftströmungen mehr oder weniger unabhängig, und so konnten wenigstens einigermassen auch quantitativ vergleichbare Resultate zwischen den an verschiedenen Orten ausgeführten Untersuchungen erhalten werden. Als Nährboden zeigte sich Weizeninfusgelatine am zweckmässigsten.

Eine Methode, welche bezüglich der Quantität der in einem bestimmten Luftvolumen enthaltenen Keime erheblich mehr leistete, wurde dann von Hesse[1]) erfunden. Hesse saugt vermittels eines Aspirators das zu untersuchende Luftquantum durch ein horizontal liegendes, ca. 70 cm langes, 3,5 cm weites Glasrohr, dessen Innenwand mit Nährgelatine ausgekleidet ist. Die Keime setzen sich dabei aus der Luft auf der Gelatine ab. Naturgemäss muss die Geschwindigkeit des Luftstromes sich in gewissen Grenzen halten, weil sonst Keime aus der Röhre wieder austreten könnten, ohne sich auf der Gelatine abgesetzt zu haben.

Ein bequemeres und leistungsfähigeres Verfahren der quantitativen Luftuntersuchung auf Mikroorganismenkeime wurde dann von Petri[2]) ausgearbeitet. Das Verfahren ist wohl das beste der überhaupt existirenden. Petri saugt die Luft mit Hülfe einer Handluftpumpe, die einen in ihrem Volumen geaichten Kolben besitzt und durch eine Kurbel in Bewegung gesetzt wird, durch ein Sandfilter, in welchem die Keime zurückgehalten werden. Das mit den Keimen beladene Filter wird in ein „Petri'sches Schälchen" (cf. oben p. 119) gebracht, der Sand wird dann mit geschmolzener Nährgelatine vermischt und gründlich darin vertheilt. Die sich nach dem Erstarren der Gelatine entwickelnden Colonien können dann gezählt und weiter untersucht werden. Der Sand hat eine Korngrösse von 0,25—0,5 mm und wird vor der Verwendung ausgeglüht. Derselbe wird in zwei durch kleine Drahtnetze gestützten Schichten von je 3 cm Länge und 1,5—1,8 cm Durchmesser in ein 8—9 cm langes Glasrohr eingebracht und in dieser Anordnung zum Filtriren der Luft

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884.

[2]) Centr. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 5—6. — Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1887.

verwendet. Nicht mehr als 5—10 Liter Luft pro Minute werden durch das Filter gesaugt, so dass die Geschwindigkeit des Luftstromes im Filter 0,7 m pro Secunde nicht übersteigt. Bei den einzelnen Bestimmungen werden 50—100 Liter Luft zur Untersuchung filtrirt.

Petri hat bei den zahlreichen Luftuntersuchungen, die er nach seiner Methode anstellte, und bei denen er stets Controluntersuchungen nach der Absitzmethode unternahm, gefunden, dass bei der Filtrirmethode relativ mehr Pilzsporen, bei der Absitzmethode relativ mehr Bakterienkeime gefunden werden. Jedenfalls ist hierfür das verschiedene specifische Gewicht der Keime verantwortlich zu machen. Die Pilzsporen sind nämlich sehr leicht, die bakterientragenden Stäubchen specifisch viel schwerer; die letzteren werden sich also leichter zu Boden senken als die ersteren. Ein weiterer interessanter Befund, der sich aus den Petri'schen Versuchen ergeben hat, ist der, dass die an einem und demselben Stäubchen anklebenden Bakterienkeime relativ selten verschiedenen Arten zugehören. Mehr als drei Species entwickelten sich niemals an der Absatzstelle eines einzelnen Luftstäubchens.

In Frankreich bedient man sich für Luftuntersuchungen immer noch des (früher allgemein üblichen) flüssigen Nährbodens. Miquel, welcher im Observatorium des Montsouris zu Paris fortlaufende Luftuntersuchungen anstellt, saugt den Luftstrom durch sterilisirtes Wasser und vertheilt nachher das mit den Keimen beladene Wasser zu gleichen Portionen in eine grössere Anzahl von Gefässen mit steriler Bouillon. Von diesen muss dann mindestens ein Drittel ohne Entwickelung von Organismen bleiben, d. h. sich als keimfrei herausstellen. Man darf dann annehmen, dass in den Gefässen, in denen Entwickelung zu Stande kommt, diese nur von einem einzigen Keime ausging, und hat damit die Anzahl der in der durchgesaugten Menge Luft enthalten gewesenen Keime.

Die Mikroorganismen, welche bei Luftuntersuchungen gefunden werden, sind erstens die verschiedenartigsten Schimmelpilze, ferner eine Anzahl Hefen, endlich Bakterien. Die Mehrzahl der Bakterienkeime gehört den Mikrococcen an; speciell finden sich ganz regelmässig eine Anzahl Sarcinearten. Die Colonien verflüssigen ihrer grossen Mehrzahl nach die Gelatine nicht. Viele chromogene Arten finden sich. Die meisten Keime gehören saprophytischen Arten an; es sind aber hier und da auch pathogene Keime gefunden worden.

Je mehr Staub in der Luft enthalten ist, desto mehr Keime findet man bei der Untersuchung. „Die Zahl der in der freien Atmosphäre gefundenen Keime schwankt zwischen 100—500—1000 pro

1 cbm" (Flügge)[1]). Fast keimfrei oder auch vollständig keimfrei hat sich die Luft draussen auf hoher See in weiter Entfernung vom Lande erwiesen. Auch auf den Spitzen schneebedeckter Berge ist die Luft sehr arm an Keimen.

b. Wasseruntersuchung.

Um den Bakteriengehalt eines bestimmten Wassers festzustellen, verfährt man nach Koch's[2]) ursprünglichem Vorgang so, dass man eine bestimmte Menge des Wassers (gewöhnlich nimmt man 1 ccm oder auch $^1/_2$ ccm oder auch [zur gegenseitigen Controle der Versuche] beides) mit sterilisirter Pipette in ein Röhrchen mit geschmolzener Nährgelatine vertheilt und die Gelatine dann auf eine sterile Platte oder in ein Petri'sches Schälchen etc. ausgiesst. Nach dem Erstarren der Gelatine entwickeln sich dann die eingesäeten Keime in isolirten Colonien, deren Anzahl in der weiterhin zu besprechenden Weise festgestellt werden kann. Ist das zu untersuchende Wasser ausserordentlich reich an entwickelungsfähigen Keimen, so ist es zur Erzielung brauchbarer Culturplatten nothwendig, dasselbe auf das 10 bis 20 fache Volumen mit sterilisirtem Wasser zu verdünnen.

Die Feststellung der Anzahl der auf der Platte zur Entwickelung gekommenen Colonien geschieht am besten mit Hülfe eines zu diesem Zwecke construirten Zählapparates. Der letztere besteht aus einer horizontalen schwarzen Tafel, auf welche die Platte oder das Schälchen aufgelegt wird. In einiger Entfernung darüber wird eine Glasscheibe gelegt, in welche ein Gitterwerk von gleich grossen Quadraten mit dem Diamanten eingerissen ist. Auf dieser Platte steht eine dreibeinige Loupe, durch die hindurch man zugleich das Gitterwerk und die Colonien sieht. Man bestimmt nun für eine Reihe von Quadraten durch directe Zählung die Anzahl der in jedem liegenden Colonien, nimmt daraus das Mittel und multiplicirt die gewonnene Zahl mit der Anzahl der Quadrate, die auf die ganze Platte kommen.

Zum Zwecke der bakteriologischen Untersuchung wird das Wasser am Orte der Entnahme in sterile Gefässe (z. B. Erlenmeyer'sche Kölbchen) eingefüllt, die mit Watteverschluss versehen und dann unverzüglich in das Laboratorium gebracht werden. Die entnommenen Proben sollen möglichst sofort in der oben angegebenen Weise zur Einsaat in Gelatine kommen. Das Letztere soll jedenfalls nicht später als etwa eine Stunde nach der Entnahme geschehen, weil die

---

1) Grundriss d. Hygiene. Leipzig. 1889. p. 163.
2) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 36.

veränderten Bedingungen eine Veränderung des Bakteriengehaltes sowohl hinsichtlich der absoluten Quantität der Keime wie hinsichtlich der relativen Menge der verschiedenartigen Keime zur Folge haben. Unmittelbar vor der Einsaat in die Gelatine ist das zu untersuchende Wasser umzuschütteln, damit etwa zu Boden gegangene Keime aufgerührt werden und eine gleichmässige Vertheilung der Keime in der Probe erzielt wird.

Die im Wasser gefundenen Bakterien gehören meist der Gruppe der Bacillen an. Vorwiegend kommen verflüssigende Arten zur Entwickelung. Eine Reihe von Bacillenarten, die im Wasser regelmässig vorkommen, haben G. C. Frankland und P. F. Frankland[1]) beschrieben. Man nennt die Bakterien, welche sich mit Vorliebe im (Fluss-, See-, Meer-) Wasser aufzuhalten pflegen, „Wasserbakterien". Pathogene Bedeutung kommt denselben nicht zu. Pathogene Arten sind selten gefunden worden. Die wichtigsten hierhergehörigen Befunde sind der Befund von Cholerabacillen in einem Tank in der Nähe von Calcutta durch Koch[2]), ferner zahlreiche Einzelbefunde von Typhusbacillen in dem Wasser durch Typhus-Dejectionen verunreinigter Brunnen.

Im Allgemeinen gehen pathogene Bakterienarten, die in gewöhnliches Wasser eingebracht werden, in kurzer Zeit zu Grunde; sie werden von den Wasserbakterien überwuchert. In sterilisirtem Wasser können sich pathogene Arten lange Zeit lebend erhalten.

Bezüglich des Keimreichthums verschiedener Wässer macht Flügge[3]) folgende Angaben: „In der Regel beobachtet man in reinem Leitungs- und Quellwasser 2—50 Bakterien in 1 ccm, in reinen Pumpbrunnen 100—200—500, in filtrirtem Flusswasser 50—200, in unfiltrirtem Wasser rein gehaltener Flüsse 6000—20000, in verunreinigten Brunnen bis zu 100000, ebensoviel bei Störung des Filterbetriebes in Flusswasserleitungen; im Kanalwasser oder in stark verunreinigten Flussläufen 2—40 Millionen Bakterien in 1 ccm."

Selbstverständlich ist in hygienischer Beziehung die Frage, wie viele Keime in einem Cubikcentimeter eines bestimmten Wassers enthalten sind, von ganz untergeordneter Bedeutung gegenüber der Frage, welchen Arten die vorhandenen Keime angehören, speciell ob pathogene Keime in dem zu untersuchenden Wasser vorhanden

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

[2]) Koch's Bericht aus Calcutta vom 4. März 1884. (Deutsche med. Woch. 1884. p. 222.)

[3]) Grundriss d. Hygiene. Leipzig. 1889. p. 210.

sind oder nicht. Die Feststellung vereinzelter Colonien pathogener Bakterien auf der Platte neben einer grossen Ueberzahl nicht pathogener Colonien hat aber sehr grosse Schwierigkeiten, und nur in seltenen Fällen hat die Plattenaussaat zur Feststellung pathogener Keime in dem untersuchten Wasser geführt (cf. oben). Die sichere Beantwortung der Frage, ob ein bestimmtes Wasser gesundheitsschädlich ist oder nicht, ist also mit Hülfe der geschilderten Methode kaum zu geben; und auch die Untersuchung der chemischen Beschaffenheit des Wassers kann diese Frage nicht ausreichend beantworten, da die Krankheitserreger nicht todte chemische Körper, sondern lebende Wesen sind.

In anderer Hinsicht aber ist die bakteriologische Wasseruntersuchung von höchster Bedeutung für die Hygiene. Wenn ein infectionsverdächtiges oder verunreinigtes Wasser unschädlich, für den Menschen geniessbar gemacht werden soll, so muss es vor Allem von den in ihm vorhandenen Infectionskeimen befreit werden. Das beste Mittel, Wasser von organischen Keimen zu befreien, ist selbstverständlich das Kochen desselben resp. das Sterilisiren durch Erhitzung. Dies lässt sich aber nur im Kleinen ausführen. Soll im Grossen möglichst keimfreies Wasser hergestellt werden, so muss das Wasser durch Filtration von den Keimen befreit werden. Am besten geschieht dies, wie bei den grossen Filtern der Berliner Wasserleitung, indem man das Wasser durch Sand filtrirt.[1]) Die bakteriologische Prüfung des Wassers vor und nach der Reinigung gewährt uns nun ein unfehlbares, durch nichts anderes zu ersetzendes Mittel, den genannten Reinigungsprocess zu controliren. Hierin liegt der Hauptwerth der bakteriologischen Wasseruntersuchung.[2])

Bei der künstlichen Filtration des Wassers durch Sand werden übrigens nicht alle Keime, sondern nur der allergrösste Theil derselben, aus dem Wasser entfernt. — Ueber die filtrirende Wirkung des Erdbodens vergl. den nächsten Abschnitt (p. 134).

c. Bodenuntersuchung.

Um den Gehalt einer bestimmten Bodenprobe an Mikroorganismen zu untersuchen, verfährt man nach C. Fraenkel[3]), dem wir eine der besten Arbeiten über diesen Gegenstand verdanken, so, dass man eine abgemessene Quantität des Bodenmaterials in ein Reagenzröhrchen mit geschmolzener Gelatine einfüllt, das Material dann gründlich in der Gelatine

[1]) Genaueres hierüber siehe bei Plagge und Proskauer (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887), ferner bei C. Fraenkel und Piefke (ebenda Bd. 8. 1890).

[2]) cf. R. Koch. 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandl. Bd. 1. p. 44.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887.

vertheilt und die Gelatine nachher an den Wandungen des Röhrchens nach der Esmarch'schen (cf. p. 119) Methode ausrollt. So behält man das gesammte Material innerhalb des Röhrchens, während beim Ausgiessen der Gelatine auf eine Platte etc. ein Theil der Keime, an Erdbröckelchen anhaftend, im Glase zurückbleiben würde, und das Resultat dadurch ein unsicheres werden würde. Fig. 23 auf Taf. IV zeigt ein solches Röhrchen, welches mit Gartenerde beschickt wurde (cf. oben p. 120). C. Fraenkel hat ein besonderes, sinnreich eingerichtetes Bohrinstrument construirt, welches gestattet, Erdproben aus beliebiger Tiefe ohne jede Verunreinigung zur Untersuchung heraufzuholen.

Uebrigens muss (wie bei Wasseruntersuchungen [p. 131]) auch bei Bodenuntersuchungen die Einsaat des Materials in die Gelatine möglichst bald nach der Entnahme desselben aus dem Boden geschehen, da sonst in Folge der veränderten Bedingungen (veränderte Temperatur, veränderte Zusammensetzung der umgebenden Luft) eine uncontrolirbare Vermehrung einzelner Mikroorganismenarten in dem Materiale selbst stattfindet.

Bei den Bodenuntersuchungen hat sich nun ergeben, dass die oberen Schichten des Bodens überall, sowohl bei bebautem wie bei jungfräulichem Terrain, sehr keimreich sind. „Es finden sich im Durchschnitt selbst im jungfräulichen, unbebauten Boden ca. 100000 Keime in 1 ccm Boden, oft noch erheblich mehr.“ (Flügge)[1]. Dieser Keimreichthum erleidet nach der Tiefe zu eine Abnahme, und zwar ist diese Abnahme eine allmähliche bis etwa zur Tiefe von $1^1/_4$ m. Dort wird die Abnahme plötzlich eine sehr rapide, so dass schon wenige Decimeter tiefer der Boden häufig völlig keimfrei angetroffen wird. Die Schicht des Grundwassers ist gewöhnlich vollständig keimfrei. Die geschilderte Vertheilung der Bakterienkeime im Boden ist so zu deuten, dass die Keime von aussen, durch die Luft oder mit Dungstoffen etc., auf die Oberfläche und in die obersten Schichten des Bodens gelangen, dass sie dann, eventuell nachdem in dem einen oder anderen Falle eine Vermehrung stattgefunden hat, mit dem in den Boden einsickernden Regen- etc. Wasser mehr in die Tiefe gespült werden. Während aber das Wasser seinen Weg durch den porösen Boden hindurch bis in das Grundwasser hinein weiter findet, bleiben die Bakterien als feste Theile zwischen den Partikelchen des Bodens hängen, so dass also, je nach der Bodenbeschaffenheit in wechselnder Tiefe, das Wasser der vorher beigemischten Bakterien entledigt ist. Es findet hier dieselbe filtrirende Wirkung der Erdpartikelchen statt, wie

[1]) Grundriss der Hygiene. Leipzig. 1889. p. 192.

wir sie bei den Sandfiltern der Wasserleitung (cf. oben p. 133) künstlich herstellen.

Da das Grundwasser in der Regel keimfrei ist, so liefern die Röhrenbrunnen dann wirklich keimfreies Wasser, wenn das Rohr selbst frei von Keimen ist. Durch einfaches Ausbürsten von Brunnenrohren gelang es C. Fraenkel[1]) das Brunnenwasser, welches vorher recht keimreich gewesen war, für eine Reihe von Tagen völlig steril zu machen. Die Kesselbrunnen, welche Verunreinigungen von aussen fortgesetzt preisgegeben sind, lassen sich natürlich nicht in dieser Weise säubern.

Die im Boden vorkommenden Bakterienarten gehören meist zu den Bacillen. Vorwiegend fand Koch[2]) bei seinen ersten orientirenden Untersuchungen den Heubacillus und den „wurzelförmigen" Bacillus. Beide sind nicht pathogen. Colonien des „wurzelförmigen" Bacillus sieht man übrigens auch in dem Taf. IV, Fig. 23, dargestellten, mit Gartenerde angelegten Culturröhrchen. Die Colonien sind durch die feinen von ihrer Peripherie ausgehenden Ausläufer kenntlich. Auf bebautem Terrain fand C. Fraenkel von pathogenen Bakterien häufig den Bacillus des malignen Oedems. Derselbe wird in gedüngter Gartenerde fast stets gefunden. Hier kommt auch der Tetanusbacillus vor.

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

[2]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 35.

B. Die Bakterien als Krankheitserreger.

I.

Einleitendes.

Von einer ganzen Reihe von Bakterienarten hat man nachgewiesen, dass ihnen die Fähigkeit zukommt, in den lebenden thierischen Körper einzudringen und denselben zur Erkrankung zu bringen. Man hat sich das so vorzustellen, dass der lebende thierische Körper hierbei den Bakterien in ähnlicher Weise zum Nährboden dient, wie dies sonst todtes organisches Substrat thut. In beiden Fällen wachsen die Bakterien und vermehren sich auf Kosten des Nährbodens; in dem einen Falle wird das todte Nährmaterial dabei in bestimmter Weise verändert, in dem anderen Falle ist es die Substanz des lebenden Körpers, welche durch das Bakterienwachsthum verändert wird. Die Veränderungen, welche der lebende Körper auf diese Weise erleidet, kommen in ihrer Gesammtheit als Erkrankung des Körpers zum Ausdruck; und man bezeichnet ganz im Allgemeinen solche Krankheiten, die durch die Vermehrung in die Körpersubstanz eingedrungener organischer Keime hervorgerufen werden, als „Infectionskrankheiten". Das Eindringen der Keime in den Organismus bezeichnet man als „Infection" desselben. Diese organischen Keime brauchen nicht stets Bakterien zu sein. Wir kennen auch andere, pflanzliche sowohl wie thierische, Mikroorganismen, welche in analoger Weise krankhafte Veränderungen des thierischen Körpers veranlassen können.

Diejenigen Mikroorganismen, welchen derartige krankheitserregende Eigenschaften zukommen, bezeichnet man als Parasiten gegenüber denjenigen, die auf todtem organischen Material vegetiren, und die man Saprophyten nennt. Die durch die parasitischen Bakterien hervorgerufenen Krankheiten sind je nach den verschiedenen Bakterienarten verschieden, und jede hierher gehörige Infectionskrankheit hat ihren specifischen Erreger. Ein jeder dieser Erreger vermag aber nur bei ganz bestimmten (je für die verschiedenen Bakterienarten verschiedenen) Thierspecies Erkrankung

zu veranlassen, während die anderen Thierspecies durch ihn nicht beeinflusst werden: Für jede hierher gehörige Parasitenart existiren bestimmte „empfängliche" Thierspecies. Auch kann die nach der Einverleibung des Erregers in den Organismus eintretende Erkrankung eine verschiedene sein, je nachdem die befallenen Thiere verschiedenen empfänglichen Arten, oder sogar je nachdem sie verschiedenen Altersstufen einer und derselben Thierart angehören.

Es giebt unter den parasitischen Bakterienarten manche, die behufs ihrer Entwickelung des lebenden Organismus als Nährbodens durchaus bedürfen, die ausserhalb dieses lebenden Organismus in der Natur sonst nicht existiren können. Diese nennt man obligate (echte, strenge) Parasiten. Auf der anderen Seite giebt es parasitische Bakterienarten, welche gewöhnlich ein saprophytisches Dasein führen, draussen in der Natur an geeigneter Stelle die Bedingungen für ihre Existenz finden, und die die Invasion des lebenden Organismus nur als gelegentlichen Abstecher betrachten, dessen sie zu ihrer Existenz durchaus nicht bedürfen. Diese Arten nennt man facultative (gelegentliche) Parasiten. Zu dem Begriffe des Parasitismus gehört aber immer, dass die Bakterien nicht bloss auf oder in dem lebenden Organismus vegetiren, sondern dass sie von der Substanz des Organismus selbst ihre Existenz bestreiten, die lebende Substanz also verändern. So sind z. B. die Milliarden von Bakterien, die in dem Inhalte unseres Darmes stets gefunden werden, keine Parasiten, sondern Saprophyten; denn sie ernähren sich nicht von der lebenden Substanz unseres Darmes, sondern von dem todten Materiale, welches innerhalb desselben vorhanden ist. Würde der Fall eintreten, dass die in dem Darmlumen auf dem todten Materiale vegetirenden Bakterien giftige Stoffwechselproducte bildeten, die, von den Organen der Darmwand aufgesogen, in den Körper überträten und denselben zur Erkrankung brächten, so würde man ebenfalls nicht von „Parasiten", von einer „Infection", reden können, sondern man müsste einen derartigen Vorgang als „Intoxication" bezeichnen, veranlasst durch die Resorption bestimmter, durch saprophytische Bakterien im Darmkanal gebildeter chemischer Zersetzungsproducte. Zu einer „Infection" gehört stets, dass die lebende Substanz des Körpers von den Mikroorganismen befallen wird, und dass die letzteren sich auf Kosten der lebenden Substanz vermehren.

Wenn wir nun bei einem bestimmten Krankheitsfalle Bakterien, oder ganz im Allgemeinen Mikroorganismen, im Körper aufgefunden haben, sind wir dann berechtigt, dieselben als Erreger der Krankheit

anzusprechen? Durchaus noch nicht. Zu einem derartigen Urtheile gehört mehr als der blosse Befund, womöglich der Befund in vereinzelten Fällen der Krankheit. Zunächst ist der Nachweis zu führen, dass in allen Fällen der betreffenden Krankheit, die uns irgend zur Untersuchung zugänglich sind, der Befund wiederkehrt, dass wir es mit einem constanten, nicht vereinzelten Befunde zu thun haben. Weiter darf sich dieser Befund bei keiner anderen Krankheit zeigen, er muss etwas für die untersuchte Krankheit Specifisches darstellen.

Ist ein constanter specifischer Bakterienbefund oder überhaupt ein constanter specifischer Befund von Organismen bei einer bestimmten Krankheit festgestellt, werden die Organismen unter Verhältnissen angetroffen, welche den pathologischen Veränderungen und dem klinischen Verlaufe der Krankheit entsprechen, so ist damit bereits ausserordentlich viel gewonnen. Es kann nicht oft genug darauf hingewiesen werden, dass dieser Punkt erst erledigt sein muss, ehe an irgend etwas Weiteres gedacht werden kann. So konnte z. B. der (jetzt verlassene) aus der Luft von Malariagegenden gezüchtete „Malariabacillus“ von vornherein keine Aussicht auf definitive Anerkennung haben, weil im Körper des Malariakranken überhaupt niemals ein parasitirender Bacillus gefunden worden ist. Wenn man das Gebäude der Feststellung der Aetiologie einer bestimmten Infectionskrankheit aufrichten will, so darf man, wie uns die logische Art des Vorgehens R. Koch's eindringlich gelehrt hat, nicht mit dem Dach beginnen, sondern muss mit dem Fundamente den Anfang machen. Das Fundament aber ist der constante Nachweis der Parasiten im erkrankten Körper, und zwar der mikroskopische Nachweis.

Wie man es anfängt, Bakterien mikroskopisch nachzuweisen, haben wir oben (p. 37 ff.) ausführlich erörtert. Es soll hier nur auf Täuschungen, denen man dabei eventuell ausgesetzt sein könnte, hingewiesen werden.[1]) Man wird sich zunächst hüten müssen, etwaige Farbstoffniederschläge, die sich im Präparate finden, für Bakterien zu halten. Die Beschränkung dieser Niederschläge auf die Oberfläche des Schnittes, die verschiedene Grösse und Gestalt derselben lässt hier Verwechselungen nicht leicht zu. Ebenso wird man sich hüten, die Körner der Plasmazellen für Mikrococcen anzusprechen (cf. p. 76). Hat man wirklich Bakterien vor sich, so könnten

---

[1]) cf. R. Koch, Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig. 1878. p. 37.

dieselben aus den Farblösungen oder sonstigen benutzten Reagentien stammen. Sie könnten dahinein durch irgend welchen Zufall gerathen sein, sich eventuell sogar darin vermehrt haben, um nachher auf dem in der Farblösung etc. behandelten Schnitt (ebenfalls oberflächlich) sich festzusetzen. Hat man diese Täuschungen vermieden, hat man wirklich Bakterien vor sich, die innerhalb des Schnittes liegen, so muss der Einwand ausgeschlossen werden, dass es sich eventuell um Fäulnissbakterien handeln könnte, welche post mortem in das Organ hineingelangt sind. „Jedesmal, wenn einzelne Bakterien nur in den oberflächlichen Schichten von Organen gefunden werden, ist zu vermuthen, dass es sich um beginnende Fäulniss handelt" (Koch)[1]. Es ergiebt sich hieraus die Regel, die Section zu untersuchender Leichen stets möglichst bald nach dem Tode vorzunehmen und die Organe möglichst sofort in Alcohol einzulegen.

Findet man aber die Bakterien im Innern von Organen in Lageverhältnissen, die nur während des Lebens zu Stande kommen können, „oder ist gar der unverkennbare Einfluss der Mikroorganismen auf das von ihrer Invasion betroffene Gewebe, z. B. Nekrose der in einem gewissen Bereich gelegenen Zellen, Anhäufung von Rundzellen in der Nachbarschaft, Eindringen der fremden Organismen in die Zellen u. s. w. zu constatiren, dann müssen solche Mikroorganismen als pathogen angesehen werden, mindestens müssen sie verdächtig erscheinen und zur weiteren Untersuchung und Aufklärung des Befundes auffordern" (Koch)[2].

Eine besondere Berücksichtigung verdienen die Oberflächen der äusseren Haut und der Schleimhäute (namentlich des Darmes), an denen normaler Weise harmlose Bakterien schmarotzen, die nicht für pathogene gehalten werden dürfen.

Uebrigens werden wir uns mit dem Nachweise von „Sporen" im Gewebe nie begnügen dürfen. Es liegt in der Natur der Sache, dass die im thierischen Körper sich vermehrenden Bakterien, hier also im Speciellen die Bacillen, in ihren vegetativen Formen vorhanden sind. Das schliesst nicht aus, dass unter Umständen, speciell bei den anaëroben Bacillenarten, auch sporentragende Stäbchen gefunden werden können. Das isolirte Vorkommen von „Sporen" im Gewebe aber, das übrigens einwandsfrei mikroskopisch kaum nachzuweisen sein dürfte, ist bisher nicht beobachtet und auch wohl unmöglich; und ein solcher vermeintlicher Nachweis muss deshalb stets mit der grössten Reserve

---

[1]) Ebenda.

[2]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 2.

aufgenommen werden und darf jedenfalls nicht als Beweis für das Vorhandensein von Bakterien im Gewebe gelten.

Hat man die constante Anwesenheit bestimmter Bakterienformen in allen Fällen einer bestimmten Krankheit sowie ihr Fehlen bei anderen Krankheiten mikroskopisch nachgewiesen, so kann man daran denken, die aufgefundenen Bakterien künstlich zu züchten. Zu diesem Zwecke müssen wir aus den von den Bakterien befallenen Organen Material entnehmen und dies unter möglichster Vermeidung von Verunreinigungen auf künstliche sterile Nährböden bringen. Man säubert dann bei der Section die zu durchschneidende Haut der auf dem Sectionsbrett fixirten Thiere äusserlich durch sorgfältiges Enthaaren und Abwaschen mit Sublimatlösung unter nachheriger eventueller Nachspülung mit Alcohol und Aether. Die zu benutzenden Messer, Scheeren, Pincetten etc. werden in durch Ausglühen sterilisirtem Zustande angewendet. Die so in möglichst originalem Zustande entnommenen Organe werden mit sterilem Messer durchschnitten; und es werden nun mit sterilem Instrumente Partikelchen aus dem Organ herausgenommen und davon Plattenculturen angelegt, um die in dem Organ vorhandenen Bakterienkeime zu isoliren und ihre Eigenschaften in sicheren Reinculturen weiterhin prüfen zu können. Man wird sich hierbei natürlich nicht mit der Nährgelatine begnügen dürfen, sondern wird jedenfalls auch Agarplatten anzulegen haben, um die Züchtung der Colonien bei Brüttemperatur vornehmen zu können. Da die verschiedenen Bakterienarten verschiedene Ansprüche stellen, und es speciell manche pathogene Arten giebt, die weder auf der Gelatine noch auf dem Agar wachsen, so muss man in solchen Fällen andere Nährböden, wie Glycerin-Agar, erstarrtes Blutserum, bereit haben, um die Züchtung darauf zu versuchen. Da das Blutserum für die Plattencultur sich nur schwer benutzen lässt, so wird man bei Blutserumculturen zur Isolirung der Bakterien gewöhnlich die ursprüngliche Koch'sche Methode der Strichcultur (cf. p. 122) anwenden. Auch darauf wird man im gegebenen Falle Rücksicht zu nehmen haben, dass die zu züchtenden Bakterien den obligaten Anaëroben angehören könnten.

Es ist jedenfalls zunächst immer danach zu streben, eine Isolirung der Keime zu erreichen. Denn gar häufig ist es der Fall, dass nicht nur eine einzige Bakterienart, sondern mehrere Arten in dem zu untersuchenden Organe vorhanden sind, von denen der einen die wesentliche Bedeutung zukommt, während die andere nur einer Zufälligkeit ihre Anwesenheit verdankt. Sorgt man nun nicht für eine Isolirung der Keime bei der Anlage der Cultur, sticht man z. B. mit

dem in das Material getauchten Platindrahte in feste Gelatine ein, legt „primär eine Stichcultur“ an, so wird häufig nur diejenige Bakterienart zur Entwickelung kommen, welche in dem Nährboden die besten Lebensbedingungen findet, während die andere, vielleicht gerade die wesentliche Art, durch das Wachsthum der ersteren erdrückt wird. Man begiebt sich so jeder Uebersicht über die ursprünglich vorhandenen Keime.

Bei manchen Krankheiten, bei denen man bestimmte, unzweifelhaft parasitäre Organismen constant findet, ist die künstliche Züchtung der letzteren bisher nicht gelungen. Solche Krankheiten sind z. B. das Recurrensfieber und die intermittirenden (Malaria-) Fieber. Hier sind wir vorläufig auf den constanten specifischen Befund allein angewiesen.

Ist die Reinzüchtung einer bestimmten im Körper gefundenen Art gelungen, so müssen wir die Cultur zunächst durch eine grössere Reihe von Generationen hindurch von einem Nährboden auf den anderen fortpflanzen. Unser schliessliches Ziel ist es nämlich, durch Uebertragung der reingezüchteten Bakterienart auf ein empfängliches Versuchsthier ihre Pathogenität sicher zu stellen. Es wäre jedoch, wollten wir von der ersten Culturgeneration die Uebertragung auf das Thier bewirken, der Einwand berechtigt, dass wir mit den Bakterien zugleich irgend welche direct aus dem Ausgangsthiere stammenden chemischen Stoffe auf das neue Thier übertragen hätten, und dass nicht die Bakterien, sondern diese chemischen Körper die eventuelle Erkrankung des Thieres herbeigeführt hätten, mit anderen Worten: dass nicht eine Infection, sondern eine Intoxication vorläge. Uebertragen wir dagegen Material aus einer späteren Culturgeneration, so ist ein derartiger Einwand natürlich hinfällig.

Finden wir nun, dass durch die Uebertragung des aus einer späteren Culturgeneration stammenden Materiales auf ein Versuchsthier eine Krankheit bei diesem Thiere — nicht in einem Falle, sondern in allen Fällen, in denen wir den Versuch wiederholen — entsteht, die der Ausgangskrankheit gleicht, erheben wir bei diesen Thieren denselben Bakterienbefund wie bei dem Ausgangsthiere, so ist die Kette des Beweises geschlossen, dass die reingezüchteten Bakterien das ätiologische Moment der untersuchten Krankheit darstellen.

Handelt es sich um eine Thierkrankheit, so ist das empfängliche Versuchsthier ohne Weiteres gegeben; handelt es sich dagegen um eine specifische Krankheit des Menschen, so gelingt es häufig gar nicht, ein empfängliches Versuchsthier zu finden. Es

hat sich aber ergeben, „dass in allen den Fällen, in welchen es gelungen ist, bei einer Infectionskrankheit das regelmässige und ausschliessliche Vorkommen von Bakterien nachzuweisen, letztere sich niemals wie zufällige Schmarotzer, sondern wie die bereits sicher als pathogen erkannten Bakterien verhielten. Wir sind deshalb wohl jetzt schon zu der Behauptung berechtigt, dass, wenn das regelmässige und ausschliessliche Vorkommen des Parasiten nachgewiesen wurde, damit der ursächliche Zusammenhang zwischen Parasit und Krankheit auch vollgültig bewiesen ist.“ (R. Koch.[1])

Auf der anderen Seite kommt es auch vor, dass empfängliche Versuchsthiere existiren, ohne dass eine Züchtung der Erreger auf künstlichen Nährböden bis jetzt möglich gewesen ist; dies ist bei dem Recurrensfieber der Fall, für welches der Affe empfänglich ist.

Bezüglich der Weiterübertragung der Culturen pathogener Bakterien von einem Nährboden zum anderen ist übrigens noch folgendes zu bemerken: Wir sehen gar nicht selten, dass eine bestimmte Art auf dem künstlichen Nährboden zunächst nur kümmerlich wächst, während sie bei weiteren Uebertragungen allmählich an Wachsthumsenergie zunimmt und schliesslich sehr gut auf dem künstlichen Nährboden fortkommt. Man bezeichnet dies Vorkommniss als Anpassung an den künstlichen Nährboden. Damit ist nun gewöhnlich eine Abnahme der pathogenen Eigenschaften oder auch ein vollständiges Verschwinden derselben verbunden. Der Parasit hat sich an das saprophytische Dasein gewöhnt. Hierauf hat man bei den anzustellenden Thierversuchen zu achten. Bei einzelnen Arten sieht man auch, dass sie auf dem künstlichen Nährboden bald absterben. Während saprophytische Organismen gewöhnlich Monate lang übertragbar bleiben, verlieren einzelne pathogene Arten ihre Uebertragbarkeit schon nach wenigen Tagen.

Als Prototyp einer Infectionskrankheit, deren Aetiologie nach den vorstehend gezeichneten, von R. Koch geschaffenen Principien ermittelt, und zwar mit unanfechtbarer Sicherheit ermittelt wurde, kann der Milzbrand gelten. Nach denselben Principien haben später Koch sowohl wie auch andere Autoren, die sich seine Methoden zu eigen machten, die Entstehungsursache einer Reihe weiterer Infectionskrankheiten klargelegt. Die erste, durch Bakterien veranlasste Infectionskrankheit, deren Aetiologie ermittelt wurde, war aber der Milzbrand. Es ist leicht einzusehen, weshalb Koch gerade diese Krankheit zum ersten Objecte seiner Untersuchungen machte. Man wusste bereits

[1]) 10. Internat. medic. Congr. 1890. Verhandl. Bd. 1. p. 40.

längere Zeit, dass im Milzbrandblute Stäbchen gefunden werden; diese Stäbchen waren relativ gross, eigneten sich also zur Beobachtung besonders; ferner waren, falls es gelang, die Stäbchen künstlich in Reinculturen zu züchten, empfängliche Versuchsthiere sicher vorhanden, da es sich ja um eine Thierkrankheit handelte. Die Schwierigkeiten der Forschung waren beim Milzbrande also noch relativ gering; und die streng logische Art des Vorgehens Rob. Koch's spricht sich bereits darin deutlich aus, dass er sich zunächst relativ leichter zu lösende Aufgaben stellte, um später, mit immer mehr vervollständigter und ausgebauter Methodik, an so schwierige Aufgaben heranzutreten, wie sie sich z. B. in der Erforschung der Ursache der Tuberculose darstellten.

Nicht bei allen infectiösen Krankheiten hat man bisher die Erreger zu ermitteln vermocht. Von den „acuten Exanthemen" (Masern, Scharlach, Flecktyphus, Pocken etc.) wissen wir noch gar nichts bezüglich ihrer Entstehungsursache; auch über die Krankheitserreger der Hundswuth, der Influenza, des Keuchhustens, des Trachoms, des Gelbfiebers, der Rinderpest, der Lungenseuche und mancher anderer unzweifelhafter Infectionskrankheiten wissen wir noch gar nichts (R. Koch) [1]. Und doch müssen hier parasitäre Organismen existiren, die die Erkrankung veranlassen. Ob diese Parasiten zu den Bakterien gehören, ist allerdings höchst zweifelhaft. Bakterienbefunde sind bei allen diesen Krankheiten erhoben worden, nicht selten mit dem Anspruche, dass hiermit der Erreger gefunden sei. Es handelt sich in allen diesen Fällen um logische Fehler in der Art und Weise, aus Beobachtungen Schlüsse zu ziehen. Nicht die Thatsache allein, dass man in dem und jenem Falle einer Infectionskrankheit Bakterien findet, berechtigt dazu, dieselben für die Erreger der Krankheit anzusehen. Dazu gehören, wie wir gesehen haben, zwingendere Beweisgründe. Die gefundenen Bakterien können rein nebensächliche Befunde darstellen, sie können eventuell der Ausdruck einer zu der ursprünglichen, primären Infection in dem einen oder anderen Krankheitsfalle dazugekommenen „secundären Infection" sein. Man bezeichnet solche Combinationen auch als „Mischinfectionen".

Die acuten Exantheme sind exquisit „contagiös", d. h. von Fall zu Fall ansteckend und übertragbar. Es mag an dieser Stelle auf den Unterschied zwischen Infectiosität und Contagiosität hingewiesen werden. Eine jede durch specifische Parasiten hervorgerufene Krankheit ist „infectiös". Man „inficirt" sich mit Cholera, mit

---

[1]) 10. Internat. medic. Congr. Berlin 1890. Verhandl. Bd. 1. p. 43.

Pocken, mit Malaria. Dabei wird auf irgend welche Weise der jedesmalige Infectionserreger in den Körper aufgenommen. „Contagiös“ nennt man aber nur solche Krankheiten, während deren Verlauf normaler Weise der Infectionserreger in infectionstüchtigem Zustande aus dem Körper des Erkrankten ausgeschieden wird, so dass die Möglichkeit gegeben ist, dass er durch die Vermittelung der Luft (wie bei den Pocken), oder an bestimmten Gegenständen haftend und durch Vermittelung dieser übertragen (wie bei der Cholera) in einen neuen Organismus gelangt und diesen inficirt. Nicht contagiös ist z. B. die Malaria; denn hier findet eine Ausscheidung infectionstüchtiger Parasiten aus dem erkrankten Körper nicht statt; bei der Malaria liegt die Möglichkeit der natürlichen „Ansteckung“ eines Falles durch den anderen nicht vor. Nur auf besondere künstliche Weise kann bei den nicht contagiösen Krankheiten die Uebertragung des Erregers von dem Kranken auf den Gesunden, die Inficirung eines Falles direct durch einen anderen, geschehen. Bei der Malaria kann man dies dadurch bewerkstelligen, dass man Blut des Erkrankten dem Gesunden einverleibt.[1])

Bei den Infectionskrankheiten kann die Einwanderung des Erregers in den Organismus, die Infection, auf verschiedenen Wegen erfolgen. Handelt es sich um „natürliche Infection“, so können die Bakterien durch den Mund in Magen und Darm gelangen und von dort aus in den Organismus einwandern, oder sie können mit der Athmungsluft in die Lunge aufgenommen werden und dann weiter in den Körper eindringen, oder sie können durch Verletzungen der Haut oder der Schleimhäute in den Körper gelangen und dann auf dem Wege der Lymph- und Blutgefässe sich weiter verbreiten. Eine dieser drei Infectionsarten trifft bei der allergrössten Mehrzahl der natürlichen Infectionen zu. In Ausnahmefällen giebt es auch noch andere Infectionspforten; und wenn wir im Laboratorium Versuchsthiere künstlich inficiren, so benutzen wir ausser den oben angeführten drei Wegen in der That häufig noch andere.

Die verschiedenen Infectionsmodi, die künstlich zur Anwendung gelangen, sind: die cutane Einverleibung des Materials („Impfung“ im engeren Sinne), die subcutane, intramusculare, intravenöse, intraoculare (Einbringung in die vordere Augenkammer), die intrapleurale, intraperitoneale Einverleibung, die Einverleibung in den Magen, in das Duodenum, die Einbringung

[1]) Eingehenderes über Contagiosität siehe bei Flügge, Die Mikroorganismen, Leipzig 1886. p. 596 ff.

durch Inhalation, die intratracheale, intrapulmonale Injection, die intracranielle (subdurale) Einverleibung (Application des Materials nach Trepanation unter die Dura), die Injection in grosse Nerven hinein. Ist mit der künstlichen Einverleibung des Infectionsmateriales in den Thierkörper eine Verletzung der Gewebe verbunden (und das ist, wenn man die Einverleibung in den Magen und die Einbringung durch Inhalation ausnimmt, stets der Fall), so muss man selbstverständlich so operiren, dass das Eindringen anderer Infectionskeime streng vermieden wird. Die Operationsstelle wird deshalb zunächst von eventuell vorhandenen Haaren befreit, dann mit Sublimatlösung, hinterher mit Alcohol und dann mit Aether abgewaschen. Alle zur Operation gebrauchten Instrumente werden in durch Hitze desinficirtem Zustande angewendet. Flüssiges Material (Culturaufschwemmungen in sterilisirtem Wasser etc.) bringt man am besten mit Hülfe einer aus Glas und Metall construirten, mit feiner Canüle versehenen, durch Hitze sterilisirbaren Spritze, wie sie in verschiedener Construction von R. Koch [1]) und Anderen angegeben ist, in das Innere der Gewebe hinein.

Soll die Pathogenität einer bestimmten reingezüchteten Bakterienart sicher gestellt werden, so muss man bei dem Thierversuche zunächst möglichst wenig von dem Bakterienmaterial in den Organismus des Versuchsthieres übertragen; denn es ist gar nicht zu vermeiden, dass mit den Bakterienzellen zugleich eine Quantität der von den Bakterien in der Cultur producirten chemischen Stoffwechselproducte übertragen wird. Unter diesen chemischen Stoffwechselproducten befinden sich häufig Körper von hoher Giftigkeit (giftige Ptomaïne, Toxine [2]), die, in etwas grösseren Mengen mit den Bakterien zugleich übertragen, Vergiftungen veranlassen und dann das Resultat des Thierversuches sehr stören, eventuell auch zu den fehlerhaftesten Schlussfolgerungen Veranlassung geben können, indem man nämlich die Erkrankung des Thieres als Folge einer Infection ansieht, während sie doch der Ausdruck einer Intoxication war. Eine Infection ist nur dann vorhanden, oder, was dasselbe sagt, die eingeführten Bakterien sind nur dann als pathogene zu betrachten, wenn sie sich auf Kosten des Organismus vermehren.

Es liegt jedoch in der Natur der Sache, dass wohl mit jeder Infection eine Intoxication verbunden ist. Man könnte sich allerdings Infectionskrankheiten denken, bei denen eine so massenhafte

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 17; Bd. 2. 1884. p. 60. — Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 46a. p. 1029.

[2]) cf. oben p. 35.

Vermehrung der Bakterien im Blute stattfindet, dass die Bakterien schliesslich ein physikalisches Hinderniss für den Blutumlauf abgeben, dass das Thier rein und ausschliesslich an der Vermehrung der Bakterien stirbt. Ob eine solche Vermehrung aber in der That möglich ist, ohne dass dabei auf das Thier irgendwie schädlich einwirkende und den Verlauf der Erkrankung beeinflussende Stoffwechselproducte gebildet werden, ist sehr die Frage. In den allermeisten Fällen von Infection tragen die giftigen Stoffwechselproducte, welche die Bakterien bei ihrem Wachsthum im Thierkörper bilden, sehr wesentlich das Ihrige zu der gesammten Erkrankung bei.

Die Bakterien zeigen sich bei den verschiedenen Infectionskrankheiten im Körper des Thieres verschiedenartig localisirt. Auch bei einer und derselben Krankheit kann je nach dem verschiedenen Modus der Infection, der verschiedenen Lage der Infectionspforte, die Localisation der Bakterien im Körper, und damit auch der Krankheitsverlauf, verschieden sein. Wählen die Bakterien das Blut als den Ort ihrer Vermehrung, sind sie bei der Section in den Blutgefässen und, abgesehen von den besonderen Veränderungen der Infectionsstelle und der ersten Verbreitungswege, überall im Blute, und nur im Blute zu finden, so bezeichnet man eine solche (schnell tödtlich verlaufende) Erkrankung nach Davaine und Koch [1]) als „Septicaemie". Bei der Septicaemie finden sich Herdbildungen, Metastasen, nicht.

In anderen Fällen schnell verlaufender allgemeiner Infection des Körpers kommt es in Folge der Vermehrung der Bakterien im Blute zur Bildung (eitriger) Herde in den inneren Organen, zur Metastasenbildung. Dann bezeichnet man den Process als „Pyaemie". Nach Koch [2]) hat man sich die erste Entstehung der Herde so vorzustellen, dass die im Blut sich vermehrenden Bakterien in grösseren Haufen zusammenhängen bleiben und, mit Blutkörperchen zusammenklebend, Embolisirung enger Blutgefässe und Thrombenbildung veranlassen.

Diesen Fällen allgemeiner Verbreitung des Infectionserregers im Körper gegenüber stehen andere Fälle, in denen die Verbreitung der Bakterien auf gewisse Gebiete oder Organe des Körpers beschränkt ist. So finden wir z. B. bei der Cholera die Erreger nur im Darme und in der Darmwand, sonst nirgends, bei dem Wundstarrkrampf (Tetanus), bei der Diphtherie finden wir sie nur an der Infectionsstelle und in ihrer nächsten Umgebung. Es ist klar, dass

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 84.

[2]) Pyaemie bei Kaninchen. Unters. über die Aetiologie der Wundinfections-Krankheiten. Leipzig 1878. p. 54 ff.

die schweren Symptome dieser Krankheiten nicht directe Folge der Bakterienvermehrung sein können, sondern dass die durch die Bakterien gebildeten giftigen chemischen Körper es sind, welche, von der Vermehrungsstelle der Bakterien aus in den Körper eingedrungen, diese Symptome veranlassen. Bleiben die Bakterien localisirt, so kann, wie bei den eben genannten Krankheiten, eine Genesung des Körpers eintreten. Bei manchen localen Infectionen ist der Ausgang in Genesung die Regel; dies sehen wir z. B. an den in unserer Haut so oft auftretenden Furunkelbildungen, die ihre Entstehung einer localen Hautinfection durch Bakterien verdanken.[1]) Bei Ueberschwemmung der gesammten Blutbahn mit den Infectionserregern ist Genesung sehr selten.

Die nahen Beziehungen zwischen Infection und Intoxication lassen übrigens eine Thatsache erklärlich erscheinen, die man ohne die Kenntniss dieser Beziehungen schwer verstehen könnte. Es hat sich nämlich gezeigt, dass unter Umständen zwar, bei gewissen Infectionskrankheiten und bei bestimmten Thierspecies, die kleinste Quantität des Infectionsmaterials, eine einzige Bakterienzelle, genügt, um die Infection zu bewerkstelligen. In anderen Fällen genügt dies durchaus nicht; man muss, um die Infection zu erzielen, grössere Quantitäten des infectiösen Materials dem Thierkörper einverleiben. Ohne Zweifel sind in solchen Fällen die in den Körper zugleich mit einverleibten giftigen Stoffwechselproducte wesentlich mitbetheiligt an dem Zustandekommen der Infection, indem sie die — von Natur, wie wir weiterhin noch sehen werden, äusserst bakterienfeindlichen — Gewebssäfte des Körpers schädigen und weniger widerstandsfähig machen gegen die eindringenden Bakterien.[2])

Es ist hier der Ort, auf die Verhältnisse einzugehen, welche für das Zustandekommen resp. das Ausbleiben der Erkrankung nach der Einführung von Infectionserregern in den Thierkörper wesentlich be-

---

[1]) Zu den localen Infectionen gehört auch die Zahncaries, welche nach den Ermittelungen von W. D. Miller (Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig. 1889) dadurch zu Stande kommt, dass zunächst eine Entkalkung des Schmelzes resp. des Zahnbeins durch saure Flüssigkeiten (saure Gährungsproducte) eintritt, und dass dann das entkalkte Zahnbein, die leimgebende Grundsubstanz desselben, von (verflüssigenden) Bakterien befallen wird, welche die Erweichung und Zerstörung derselben bewirken.

[2]) Hiermit in Einklang steht die wichtige neue Entdeckung von A. Gottstein (Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 24), dass unter Umständen Thiere, die sich gegen einen bestimmten Krankheitserreger unter normalen Verhältnissen vollständig refractär verhalten, durch Einverleibung blutkörperchenzerstörender Substanzen für diesen Erreger empfänglich gemacht werden können.

stimmend sind. Wir werden besonders die auf Immunität und Schutzimpfung bezüglichen Fragen einer Betrachtung zu unterwerfen haben.

Wenn ein thierischer Organismus für eine bestimmte Infectionskrankheit unempfänglich ist, so nennt man ihn „immun“ gegen diese Krankheit. Man sagt auch, er verhalte sich refractär gegen die Einverleibung des bestimmten Infectionserregers. Die Immunität gegen eine bestimmte Krankheit kann, wie wir bereits oben (p. 140) angedeutet haben, eine allgemeine Eigenschaft aller Mitglieder der betreffenden Thierspecies sein; man spricht in diesem Falle von der natürlichen Immunität der Species. Sie kann aber auch einzelne Individuen einer im Uebrigen für die bestimmte Infectionskrankheit empfänglichen Thierspecies betreffen. In dem letzteren Falle handelt es sich um individuelle Immunität.

Die individuelle Immunität kann unbekannte Ursachen haben; sie kann aber auch — auf natürliche oder künstliche Weise — erworben sein. Wenn ein Kind Scharlach überstanden hat, so ist es in der Regel für das weitere Leben gegen eine erneute Scharlacherkrankung gefeit. Hier haben wir es mit einer zufälligen, natürlichen Immunisirung zu thun. Die Immunisirung kann aber auch absichtlich, künstlich zu Stande gebracht werden, und zwar durch Einverleibung eines bestimmten, je nach den verschiedenen Krankheiten verschiedenen Impfstoffes, eines „Vaccin“, in den Organismus.

Bekanntlich wird seit beinahe hundert Jahren die Schutzimpfung gegen die Menschenpocken geübt. Es handelt sich hier um eine rein empirische Sache. Man hatte beobachtet, dass Menschen, die sich mit dem Inhalte der Kuhpocken inficirten, eine leichte Erkrankung bekamen, und dass das Ueberstehen dieser leichten Erkrankung Immunität verlieh gegen die Infection mit den Menschenpocken. Es liegt hier eine merkwürdige, aber uns leider noch völlig dunkle Beziehung zwischen zwei von einander verschiedenen Krankheiten vor. Wir wissen nur, dass diese Beziehung existirt. Wir erzeugen bei der Kuh oder beim Kalb durch Impfung absichtlich eine Infectionskrankheit; wir entnehmen von dem kranken Thiere Krankheitsstoff und impfen denselben dem menschlichen Organismus ein; wir sehen, dass der letztere danach erkrankt; aber wir sehen diese Erkrankung sehr gern, weil wir wissen, dass das Ueberstehen derselben den Organismus schützt vor einer weit gefährlicheren Krankheit. Wir thun dies alles, trotzdem wir weder den Erreger der Kuhpocken noch den der Menschenpocken kennen, und trotzdem alle An-

strengungen der letzten Jahre, dieser Erreger, die doch sicher existiren, habhaft zu werden, bisher gescheitert sind (cf. p. 146). Wie dem aber auch sei, jedenfalls ist hier die Immunität gegen die eine Krankheit durch das Ueberstehen einer anderen — mit der ersten vielleicht nahe verwandten — Krankheit, die durch künstliche Impfung erzeugt wurde, hervorgebracht worden.

In anderen Fällen, und zwar, wie wir weiter sehen werden, bei einer Reihe von Infectionskrankheiten, deren Erreger wir genau kennen, geschieht die Immunisirung nach dem Vorgange von Pasteur durch Einverleibung des Erregers derselben Krankheit, gegen die wir den Organismus schützen wollen. Die Eigenschaften des in den Organismus einzubringenden Krankheitserregers müssen hier jedoch in der Weise abgeändert sein, dass eine verderbenbringende Infection nicht etwa durch die Impfung selbst schon erfolgt.

Die erste Entdeckung auf diesem Gebiete wurde 1880 von Pasteur gemacht. Pasteur fand, dass Hühner — welche bekanntermassen für die Infection mit den „Hühnercholerabakterien" im höchsten Grade empfänglich sind und nach der Einverleibung dieser Bakterien in ihren Körper ausnahmslos an einer schweren Allgemeinerkrankung sterben — nur local und vorübergehend erkranken, wenn man ihnen solche Hühnercholerabakterien unter die Haut bringt, die in den künstlichen Culturen bereits längere Zeit (eine Reihe von Monaten) sich selbst überlassen gestanden haben. Nach dem Ueberstehen dieser localen Erkrankung zeigten sich die Hühner gegen die Impfung mit den wirksamsten, frischesten Hühnercholerabakterien immun. Durch das längere Stehen der ursprünglich so verderbenbringenden Bakterienculturen haben dieselben demnach an ihrer Giftigkeit für den Organismus des Huhns, an ihrer „Virulenz", erheblich eingebüsst.

Man nennt so veränderte Culturen, so veränderte Bakterien abgeschwächt; und es hat sich in der Folge gezeigt, dass eine solche Abschwächung, ein solcher Verlust der Virulenz ursprünglich virulenter Bakterien nicht allein bei den Erregern der Hühnercholera, sondern bei einer ganzen Reihe von pathogenen Bakterienarten beobachtet werden kann. Ebenso hat es sich weiterhin auch gezeigt, dass die Impfung mit abgeschwächtem Material bei einer ganzen Reihe von Infectionskrankheiten Immunität hervorbringt gegen die Impfung mit virulentem Material.

Durch welche Einflüsse werden aber virulente Bakterien abgeschwächt? Was diese Frage angeht, so giebt es eine ganze Anzahl Methoden, mit Hülfe deren man virulente Bakterien abzuschwächen

vermag. In dem vorher erwähnten Falle der Hühnercholera war es das längere Stehen der Culturen, welches die Abschwächung zu Wege brachte; und Pasteur war der Ansicht, dass der lange dauernde Einfluss des atmosphärischen Sauerstoffs wesentlich dabei betheiligt sei.

Ausserdem giebt es eine Reihe von chemischen Körpern (sehr dünne Lösungen von Kaliumbichromat, von Schwefelsäure, von Carbolsäure etc.), die, mit virulenten Bakterienculturen längere oder kürzere Zeit in Berührung, dieselben abschwächen.

Auch ein längeres Austrocknen kann abschwächend wirken.

Von ganz besonderer Bedeutung aber haben sich in dieser Beziehung thermische Einflüsse gezeigt. Eine kurz dauernde Erwärmung auf höhere Temperaturgrade (bei Milzbrandbacillen z. B., wie Toussaint 1880 fand, 10 Minuten langes Erwärmen auf 55° C.) wirkt unter Umständen abschwächend ein. Noch sicherer wirkt in manchen Fällen die Cultivirung der Bakterien bei Temperaturen, die zwar erheblich niedriger als die eben genannten sind, aber doch nahe an der Grenze liegen, unterhalb deren die betreffende Bakterienspecies überhaupt noch zu wachsen vermag.

Ausserdem beobachtet man eine Abschwächung mitunter auch dann, wenn man die Bakterien durch einen für sie wenig geeigneten Thierkörper passiren lässt. Pasteur hat z. B. gefunden, dass die Schweinerothlaufbacillen, welche für junge Schweine edler Rassen ein äusserst gefährliches infectiöses Material bilden, die Virulenz für Schweine verlieren, wenn man sie zunächst Kaninchen einimpft und dann aus dem Kaninchenkörper weiter cultivirt.

Alles in Allem pflegen Abschwächungsvorgänge also dann einzutreten, wenn man virulente Bakterien in Aussenverhältnisse versetzt, welche ihnen ungünstig sind und ihrer eigentlichen Natur wenig entsprechen.

Was ist nun das Wesen der Abschwächung? Wie unterscheiden sich abgeschwächte Bakterien, abgesehen von der Veränderung der Virulenz, von gleichnamigen virulenten Bakterien? Durch umfangreiche Versuche, welche Smirnow[1]) in dem Institut von Flügge angestellt hat, hat sich als ziemlich allgemein zutreffend die Thatsache herausgestellt, dass der Verlust der Virulenz mit einer allgemeinen Degeneration der Bakterien verbunden ist. Die abgeschwächten Bakterien wachsen auf dem künstlichen Nährboden im Allgemeinen langsamer als die virulenten, die sporenbildenden

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888.

unter ihnen zeigen sich in dieser Sporenbildung verlangsamt, die abgeschwächten Culturen sind in jeder Beziehung weniger kräftig als die virulenten Culturen.

Es muss jedoch bemerkt werden, dass das genannte Gesetz ganz allgemein gültig doch nicht ist. So befinden sich, wie Behring[1]) mitgetheilt hat, im Koch'schen Institute Milzbrandbacillenculturen, welche bei erheblichster Abschwächung ihrer Virulenz in ihren sonstigen Fähigkeiten, in der Schnelligkeit des Wachsthums, der Sporenbildung etc. sich wie die kräftigsten, virulentesten Milzbrandculturen verhalten.

Es ist an dieser Stelle zu erwähnen, dass eine einmal eingetretene Abschwächung sich bei fortgesetzten Uebertragungen in immer frischen Nährboden hinein entweder dauernd oder doch für längere oder kürzere Zeit zu erhalten pflegt; d. h. die einmal durch ungünstige äussere Verhältnisse modificirten Bakterien erlangen bei Wiederherstellung günstigster Culturbedingungen ihre früheren normalen Eigenschaften durchaus nicht sofort, mitunter sogar überhaupt nicht, wieder.

Durch die Impfung mit abgeschwächten Infectionsstoffen hat man nun gegen eine ganze Reihe von Krankheiten künstliche Immunität zu erzeugen vermocht. Ausser der Hühnercholera war es zunächst der Milzbrand, gegen den eine künstliche Immunisirung durch Einimpfen in bestimmter Weise künstlich zubereiteter Vaccins ermöglicht wurde. Toussaint erhielt durch 10 Minuten lange Erwärmung virulenter Milzbrandbacillen (Blut von Milzbrandthieren) auf 55 ° C. Vaccins. Pasteur stellt sich seine Vaccins dar durch Cultivirung der Milzbrandbacillen in Bouillon bei einer Temperatur zwischen 42 und 43 ° C. Auch für den Rauschbrand, eine in vielen Gegenden häufig vorkommende Krankheit der Rinder, wurde, und zwar durch Arloing, Cornevin und Thomas, eine künstliche Immunisirung aufgefunden. Die genannten Autoren erhitzten das getrocknete, sehr infectiöse Fleisch der an Rauschbrand verendeten Thiere auf 100 ° C. und erzielten dadurch einen Vaccin. Gegen den Schweinerothlauf kann man nach der Entdeckung Pasteur's Schweine dadurch immunisiren, dass man ihnen Schweinerothlaufbacillen einverleibt, die in der oben (p. 153) angegebenen Weise durch das Passiren des Kaninchenkörpers abgeschwächt wurden. Endlich kann man auch, wie ebenfalls Pasteur gefunden hat, gegen die Hundswuth, deren Erreger wir im Uebrigen noch ganz und gar nicht kennen, Hunde durch Einimpfung abgeschwächten Infectionsmaterials immunisiren.

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 137.

Die Abschwächung wird in diesem Falle dadurch bewerkstelligt, dass man kleine Stücke der nervösen Centralorgane an Hundswuth verendeter Thiere, in welchen das noch unbekannte Gift der Hundswuth enthalten ist, längere oder kürzere Zeit in trockener Luft der Austrocknung überlässt.

Fassen wir nun diejenigen Krankheiten ins Auge, deren Erreger bekannt sind, und bei denen durch Einimpfung der abgeschwächten Bakterien eine künstliche Immunisirung des Thierkörpers gegen die Infection mit virulenten Bakterien erfolgt, so drängen sich uns mehrere Fragen auf: Was wird im Thierkörper aus den demselben eingeimpften abgeschwächten Bakterien? Welche Veränderungen erleidet der Thierkörper bei dem Immunisirungsacte? Wodurch wird er in den Stand gesetzt, die Einimpfung virulenten Materials schadlos zu ertragen? Was geschieht mit den dem immunen Thiere eingeimpften virulenten Bakterien?

Stellen wir uns behufs der Beantwortung dieser Fragen zunächst eine Vorfrage: Was wird überhaupt aus irgend welchen Bakterien, die dem Thierkörper einverleibt werden? Vermag der Organismus die Bakterien etwa auf dem Wege der Nieren, des Darms, der Haut etc. auszuscheiden? Nun, dies ist nicht der Fall. Wenn es sich um solche Bakterien handelt, welche für die betreffende Thierspecies nicht pathogen, also unschädlich sind, so verschwinden dieselben nach dem Einbringen in den Thierkörper in kürzester Frist spurlos. Sie werden von den Säften des Körpers direct abgetödtet und dann, eventuell unter Vermittelung gewisser Zellen (Gefässendothelien in Milz, Leber und Knochenmark), aufgelöst und endgültig vernichtet. Handelt es sich hingegen um Bakterien, die für die betreffende Thierspecies pathogen sind, so beobachtet man zunächst zwar auch eine gewisse Schädigung der Bakterien durch die Körpersäfte; dann jedoch gelangen die Bakterien zur Vermehrung; d. h. das Thier erkrankt, um schliesslich an der Infection zu Grunde zu gehen, der Uebermacht der Bakterien zu erliegen.[1])

Die Frage, was denn aus abgeschwächten Bakterien werde, die dem für die gleichnamigen virulenten Bakterien empfänglichen Thierkörper einverleibt werden, ist nun ebenso leicht zu beantworten wie die andere Frage, was denn aus den virulenten Bakterien werde, die dem künstlich gegen die Infection immun gemachten Thierkörper eingeimpft werden. In beiden Fällen nämlich tritt in kürzester Zeit eine

---

[1]) cf. Flügge-Wyssokowitsch. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886.

vollständige Vernichtung des eingeführten Bakterienmateriales ein. Dasselbe verschwindet spurlos.[1])

Anders jedoch steht es mit der Beantwortung der Frage, in welcher Weise der Thierkörper bei der Immunisirung verändert wird: welche Vorgänge schliesslich der Grund sind, dass der Körper die spätere Einführung virulenten Infectionsstoffes unbeschädigt übersteht. Es sind zur Erklärung dieser Dinge eine ganze Reihe von Hypothesen aufgestellt worden. Klebs und Pasteur waren der Ansicht, dass bei der Immunisirung eine Erschöpfung des Körpers an gewissen für die Bakterien nothwendigen Nährstoffen eintritt, und dass in Folge dieser Erschöpfung die späterhin in den Körper eindringenden virulenten Bakterien in demselben nicht zu gedeihen vermögen (Erschöpfungshypothese). Chauveau sprach die Ansicht aus, dass bei der Immunisirung gewisse Stoffwechselproducte der Bakterien in dem Thierkörper zurückgehalten werden (Retentionshypothese), die eine spätere Ansiedelung virulenter Bakterien verhindern. Metschnikoff hat durch eine grosse Reihe von Arbeiten den Beweis zu liefern gesucht, dass gewisse Körperzellen, nämlich die weissen Blutkörperchen und grössere Organzellen (Phagocyten), welchen er überhaupt die Fähigkeit zuspricht, Bakterien activ anzugreifen und „aufzufressen“, bei dem Immunisirungsacte sich in der Bakterienvernichtung an den abgeschwächten Bakterien üben und hierdurch die Fähigkeit erlangen, die später eindringenden virulenten Bakterien ebenfalls zu vernichten (Phagocytentheorie).

Keine der aufgezählten Hypothesen hat einer sorgfältigen experimentellen Kritik, welche besonders von Flügge und von Baumgarten resp. von den Schülern dieser Forscher unternommen wurde, Stand zu halten vermocht. Es bleibt vorläufig noch eine offene Frage, welcher Art die Veränderungen sind, die sich in dem Thierkörper bei der Immunisirung vollziehen. Eins aber hat sich mit Sicherheit feststellen lassen, nämlich, dass es die Säfte des lebenden Körpers (speciell das Blut resp. das Blutserum[2]) des-

---

[1]) cf. Flügge-Bitter. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888. p. 299 ff. — Emmerich und di Mattei, Fortschr. d. Med. 1888. No 19.

[2]) cf. Fodor, Deutsche med. Woch. 1887. No. 34. — Flügge-Nuttall, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888. — Buchner, Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889 No. 25; Bd. 6. 1889. No. 1 und 21; Arch. f Hyg. Bd. 10. 1890. — Durch die Buchner'schen Untersuchungen ist erwiesen worden, dass die bakterientödtende Kraft des (frischen normalen extravasculären Kaninchen- und Hunde-) Blutes den Eiweisskörpern des (zellenfreien) Serums zuzuschreiben ist. Diese Eiweisskörper wirken aber nur in Gegenwart der im Serum vorhandenen

selben) sind, welche bei der Bakterienvernichtung die erste Rolle spielen. Nicht geformte Theile sind es, welche die Bakterienvernichtung bewirken, sondern es sind ohne Zweifel bestimmte, dem lebenden Thierkörper eigenthümliche chemische Substanzen, welche hier in erster Reihe, vielleicht ausschliesslich, in Frage kommen.

Nach diesen Ergebnissen kann es kaum noch einem Zweifel unterliegen, dass die Frage nach der letzten Ursache jedweder Immunität, der natürlichen und der künstlich erworbenen, auf das chemische Gebiet gehört.

Welcher Art die chemischen Veränderungen sind, die die Körpersäfte bei der Immunisirung erleiden, diese Frage hat sich bis heute allerdings der Beantwortung entzogen. Auch dürfte diese Frage durchaus nicht etwa für alle bezüglichen Fälle in gleicher Weise zu beantworten sein. Es sind aber auf dem Gebiete der Schutzimpfung in den letzten Jahren eine Reihe von ausserordentlich wichtigen Entdeckungen gemacht worden, welche auch den letzten Zweifel beseitigen, das die Immunitätsfrage eine chemische ist.

Zunächst zeigte es sich, dass man in einzelnen Fällen durch Einimpfung der Stoffwechselproducte bestimmter Bakterien (ohne Einverleibung irgend welches lebenden Bakterienmaterials)[1] Thiere immunisiren kann gegen die spätere Einverleibung des entsprechenden (mitunter auch eines andersartigen) lebenden Bakterienmaterials. Eine solche Immunisirung auf rein chemischem Wege gelang zuerst Salmon und Smith 1887 bei Tauben gegen Hog-Cholera (amerikanische Schweineseuche), ferner in demselben Jahre Foà und Bonome bei Kaninchen und Fröschen gegen Infection mit Proteus vulgaris und Proteus capsulatus, ferner gleichzeitig Chamberland und Roux bei Pferden, Eseln, Hammeln und Hunden gegen malignes Oedem, Roux bei Meerschweinchen gegen Rauschbrand.

Dann fand Wooldridge[2]), dass sich aus dem normalen Thierkörper, ohne irgend welche Mitwirkung von Bakterien, Eiweiss- (Fibrinogen-) Lösungen herstellen lassen,

---

Salze. Durch einstündiges Erwärmen auf 55° C. oder durch sechsstündiges Erwärmen auf 52° C. verliert das Serum seine Wirksamkeit.

[1]) Die bakterienfreien Stoffwechselproducte werden dadurch erhalten, dass man die Bakterienculturen unter Druck durch Porcellan filtrirt (Pasteur-Chamberland'sche Porcellanfilter, Porcellankerzen), wobei die Bakterien als feste Theile zurückbleiben, oder dass man die Culturen durch stärkere Erhitzung von den lebenden Bakterien befreit.

[2]) Arch. f. Anatomie und Physiologie. 1888.

deren Einverleibung Immunität gegen Infection mit virulentem Milzbrand hervorruft.

Handelt es sich in den genannten Fällen stets um Immunisirung gegen nachfolgende Infection, so hat die Entdeckung der Heilung der Tuberculose durch R. Koch den Beweis geliefert, dass die Einverleibung chemischer Körper in den thierischen Organismus unter Umständen auch im Stande ist, eine bereits bestehende Infectionskrankheit zum Stillstand, zur Heilung zu bringen.

Zum Schlusse müssen wir hier wichtiger neuer Untersuchungen von Behring und Kitasato[1]) gedenken. Die Autoren haben festgestellt, dass die Einverleibung von Blut oder Blutserum von Thieren (Kaninchen), welche gegen Tetanus immunisirt sind[2]), in den Körper von tetanusempfänglichen Thieren (Mäusen) die letzteren unempfänglich macht sowohl für die Infection mit virulenter lebender Tetanusbacillencultur wie für die Wirkung der giftigen Stoffwechselproducte der Tetanusbacillen, deren Einverleibung normale Thiere unter allen Umständen an Tetanus zu Grunde gehen lässt. Die Autoren haben durch diese und andere (cf. p. 171) Beobachtungen bewiesen, dass „die Immunität von Kaninchen und Mäusen, die gegen Tetanus immunisirt sind, beruht auf der Fähigkeit der zellenfreien Blutflüssigkeit, die toxischen Substanzen, welche die Tetanusbacillen produciren, unschädlich zu machen". Es gelang auf die genannte Weise übrigens auch, bereits inficirte, erkrankte Thiere zu heilen.

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 49.

[2]) Ueber die Art und Weise, wie diese Immunisirung erzielt wird, werden die Autoren in der Zeitschrift für Hygiene berichten.

II.

Die wichtigsten pathogenen Bakterienarten im Speciellen.

1. Der Milzbrandbacillus.

Der Milzbrandbacillus (Bacillus anthracis, bactéridie du charbon) wurde im Blute milzbrandkranker Thiere zuerst 1849 von Pollender gesehen. Der Befund wurde dann von verschiedenen Seiten bestätigt, und namentlich war es Davaine, welcher (1863) auf Grund experimenteller Untersuchungen zu der Ueberzeugung gelangte, dass durch die in dem Blute milzbrandkranker Thiere vorhandenen Stäbchen die Milzbrandkrankheit erzeugt werde. Aber Robert Koch war es vorbehalten, das letztere schlagend zu beweisen. Koch[1]) gelang es, die Stäbchen künstlich zu züchten, ihren Entwickelungsgang in allen Einzelheiten darzulegen, nachzuweisen, dass die Stäbchen unter Umständen Dauerformen (Sporen) produciren, dass die letzteren viel resistenter sind als die Stäbchen selbst, und dass die Infectiosität milzbrandigen Materiales eine ganz verschiedene Haltbarkeit besitzt, je nachdem das Material Sporen enthält oder nur Stäbchen. So erklärte Koch die Differenzen in den Erfolgen der früheren Impfversuche, welche ein abschliessendes Urtheil über die Bedeutung der im Blute gefundenen Stäbchen bis dahin nicht ermöglicht hatten. Als eins der Hauptergebnisse seiner Untersuchungen bezeichnete Koch[2]) den Nachweis, „dass nur solche Substanzen Milzbrand hervorriefen, aus welchen bei den gleichzeitig angestellten Culturversuchen sich sporenhaltige Fäden entwickelten und umgekehrt.“ Hiermit war bewiesen, dass die Uebertragbarkeit des Milzbrandes an das Vorhandensein lebensfähiger Bacillenkeime geknüpft ist.

---

[1]) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1876.
[2]) Ebenda p. 292.

Der Milzbrandbacillus ist 1—1,5 μ breit und 3—6—10 μ lang. Er findet sich im Blute milzbrandiger Thiere, und zwar entweder in einzelnen Exemplaren oder in kleinen Verbänden, 2, 3, 6 bis 10 Stäbchen zu einem Faden vereinigt. Die einzelnen Stäbchen haben scharf abgeschnittene Enden, die Endflächen sind ganz wenig concav eingezogen, so dass in den Fäden zwischen den zusammenstossenden Enden je zweier Stäbchen eine Trennungsstelle entsteht, die eine kleine Anschwellung in der Mitte besitzt. Dies Verhalten ist dem Milzbrandbacillus durchaus eigenthümlich. Es unterscheidet ihn schon morphologisch von anderen, im Uebrigen ähnlich gestalteten Bacillenarten. Diese eigenthümliche Gliederung der Milzbrandbacillenfäden kommt aber nur bei einer gewissen Färbungsbehandlung zum Ausdruck. Am Vollendetsten zeigt sie das von Rob. Koch 1877 veröffentlichte Photogramm [1]), welches nach einem mit Anilinbraun gefärbten, in Glycerin eingelegten Trockenpräparate von Milzsubstanz der Milzbrandmaus aufgenommen war. Ich habe mich vergeblich bemüht, ein ähnlich typisches Präparat für meine Tafeln zu gewinnen. Am besten zeigte sich mir in dieser Beziehung ein mit Methylenblau gefärbtes Trockenpräparat, welches auf Taf. V, Fig. 25, dargestellt ist. Einzelne Bacillenfäden zeigen hier die typische Gliederung recht gut.

Der Milzbrandbacillus ist stets unbeweglich. Er wächst bei Sauerstoffanwesenheit auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden, bei Brüttemperatur besser als bei Zimmertemperatur. Unter 15° C. findet kein Wachsthum statt. Zwischen 15 und 18° C. ist dasselbe sehr kümmerlich. Die obere Grenze ist etwa 45° C. Die Gelatine wird mässig schnell verflüssigt. Der Impfstich der Gelatinestichcultur zeigt häufig, aber nicht stets, feine fadenförmige Ausläufer (Taf. VI, Fig. 33); auf der Gelatineplatte zeigt die Colonie häufig einen zierlich gelockten Rand. Taf. V, Fig. 29, zeigt eine solche Colonie bei schwacher (40facher) Vergrösserung. Die Lockenbildung ist, wenn man sie beobachtet, für Milzbrand characteristisch. Häufig aber erscheinen die Colonien auf der Gelatineplatte ohne diesen gelockten Rand; sie bilden dann mehr oder weniger kugelförmige Knäuel, an deren Rändern man bei schwacher Vergrösserung aber stets ein fädiges Gefüge constatiren kann. Die Colonie auf der Platte zeigt auch nicht selten fädige Ausläufer, welche in die Umgebung hineinwachsen, also ähnliche Bildungen, wie wir sie bei der Stichcultur sahen. Solche Colonien mit Ausläufern zeigt die auf Taf. V, Fig. 30, bei 40facher Vergrösserung dargestellte Platte,

[1]) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. Taf. XVI, Fig. 5.

welche übrigens nicht durch Vertheilung von Milzbrandmaterial in der flüssig gemachten Gelatine, sondern durch oberflächliches Aufstreichen des Materials mit der Spitze des Platindrahtes auf die erstarrte sterile Gelatine (cf. p. 122) erhalten wurde. Fig. 31 auf Taf. VI zeigt ein Klatschpräparat von dieser Platte bei 1000facher Vergrösserung. Die zierlichen fädigen Windungen der Figur 30 lösen sich hier in die deutlich gegliederten Bacillenfäden auf.

Auf Kartoffeln bildet der Bacillus einen weissen, trockenen Belag. Auf der Agaroberfläche wächst derselbe in Gestalt eines grauen, mattglänzenden Ueberzuges.

Ueberall auf den künstlichen Nährböden wächst der Milzbrandbacillus zu langen Fäden aus, die viele Hunderte und vielleicht Tausende von Gliedern enthalten können.

Ist der Nährboden in gewisser Beziehung erschöpft, so tritt in den Fäden Sporenbildung ein; und zwar bildet sich in der Mitte jedes einzelnen Bacillus eine Spore. Die Sporenbildung ist aber noch an zwei weitere Bedingungen geknüpft: Erstens muss Sauerstoff vorhanden sein, und zweitens muss eine bestimmte Temperatur (zwischen 18 und etwa 40° C.) herrschen. Bei Brüttemperatur sind die Sporen etwa 24 Stunden nach der Einsaat des Materiales in den Nährboden fertig, bei 21° C. etwa nach 72 Stunden. Die kräftigsten und schönsten Sporen werden zwischen 20 und 25° C. gebildet. Die Milzbrandspore besteht nach Koch[1]) „aus einem stark lichtbrechenden Tröpfchen, vielleicht einem Oel, welches von einer dünnen Protoplasmaschicht eingehüllt ist. Letztere ist die eigentliche entwickelungsfähige Zellsubstanz, während ersteres vielleicht einen bei der Keimung zu verbrauchenden Reservestoff bildet.“ Fig. 34 auf Taf. VI zeigt Milzbrandfäden mit den stark lichtbrechenden (glänzenden) Sporen. — Sind übrigens bei der Erschöpfung des Nährbodens die übrigen Bedingungen für die Sporenbildung nicht vorhanden, so kommt es zum Absterben der Bacillen; es bilden sich dann, wie früher (p. 15) dargelegt, Involutionsformen (siehe Fig. 32 auf Taf. VI).

Sind die Sporen fertig gebildet, so zerfällt, wie wir oben (p. 15) dargelegt haben, der Bacillenfaden; die Sporen werden aus dem Verbande ausgelöst, liegen frei da und verändern sich nun nicht mehr, bis sie wieder auf einen passenden Nährboden gelangen. Hier keimen sie, bei Brüttemperatur schon innerhalb weniger Stunden, wieder zu Bacillen in der Weise aus, dass die länglich rund gestaltete Spore sich in der Richtung ihres grössten Durchmessers verlängert, dabei

[1]) Ebenda, p. 289.

an Glanz abnimmt und schliesslich den sich durch Zweitheilung weiter vermehrenden Bacillus repräsentirt.

Die Resistenz der Milzbrandsporen gegen äussere Einwirkungen ist, wie wir bereits oben (p. 25, 29) erwähnten, nach den Ermittelungen von E. v. Esmarch nicht immer die gleiche. Es giebt Milzbrandsporen, die durch 5 proc. Carbolsäurelösung bereits in 2 Tagen, durch strömenden Dampf von 100° C. in 3 Minuten abgetödtet werden, während es andere giebt, die die Einwirkung derselben Flüssigkeit länger als 40 Tage, des strömenden Dampfes länger als 12 Minuten ertragen. Das Material hat je nach seiner Provenienz eine verschiedene Resistenz. Die Gründe dafür sind noch unbekannt.

Chamberland und Roux[1]) fanden 1883, dass Milzbrandbacillen die Fähigkeit verlieren können, Sporen zu bilden („asporogener Milzbrand"), ohne dass dabei die Virulenz geschädigt zu werden braucht. Solcher asporogener Milzbrand wurde erhalten durch Cultivirung von Milzbrandbacillen in Nährbouillon mit einem Zusatz von $^1/_{2000}$ bis $^1/_{5000}$ Kaliumbichromat. K. B. Lehmann[2]) fand später, dass Milzbrandculturen, die in langer Reihe von Gelatine zu Gelatine weiter gezüchtet waren, asporogen geworden waren. Behring[3]) hat dann nachgewiesen, dass die genannte Erscheinung als Ausdruck einer gewissen Degeneration anzusehen ist, die (wie bereits Chamberland und Roux fanden) durch gewisse für die Bacillen nicht zweckmässige Zusätze zu den Nährböden künstlich veranlasst werden kann.

Die Virulenz der Milzbrandculturen lässt sich auf verschiedene Art und Weise abschwächen, wie wir oben (p. 154 ff.) bereits erörtert haben.

Der virulente Milzbrand producirt auf künstlichen Nährböden Säure, der abgeschwächte Milzbrand bewirkt Reduction des Nährbodens (Behring[4]).

Der Milzbrandbacillus ist ein facultativer Parasit. Ohne Zweifel findet er draussen in der Natur an geeigneten feuchten Stellen sein Fortkommen und kommt dort auch zur Sporenbildung, um dann gelegentlich mit dem Futter in den Organismus der Weidethiere, speciell den Darm derselben, eingeführt zu werden und dann die Erkrankung an Milzbrand zu veranlassen.

---

[1]) Compt. rend. Acad. des sc. t. 96. — Roux, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1890. No. 1.

[2]) Münch. med. Woch. 1887. No. 26.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889.

[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

In der Natur ausserhalb des Thierkörpers nachgewiesen ist der Milzbrandbacillus noch nicht.

Die Weidethiere (Schafe, Rinder, Pferde) werden fast stets vom Darme aus inficirt. Der Milzbrand tritt hier zunächst als Darmmilzbrand auf. Die Infection kann ausserdem auf vielen anderen Wegen erfolgen; besonders durch cutane Impfung kann der Infectionsstoff auf empfängliche Thiere leicht übertragen werden. Ausserordentlich empfänglich für cutane Infection sind Mäuse, ferner Meerschweinchen und Kaninchen. Diese Thiere können auch durch Inhalation von Sporen sehr leicht inficirt werden (Buchner)[1], während sie vom Darme aus sehr schwer zu inficiren sind. Bei der Infection durch Inhalation kommt zunächst Lungenmilzbrand zu Stande. Als primärer Lungenmilzbrand ist auch die sogenannte „Hadernkrankheit" des Menschen aufzufassen, welche bei Lumpensortirern auftritt und der Einathmung von Milzbrandsporen, die den Lumpen anhafteten, ihre Entstehung verdankt. Uebrigens kommen die meisten Milzbrandfälle beim Menschen durch Infection von kleinen Hautwunden zu Stande (Pustula maligna). Bei zweckmässiger Behandlung, und öfters auch ohne diese, bleibt der Milzbrand beim Menschen local resp. geht nicht über die Lymphdrüsen hinaus. Auch Fälle von Darmmilzbrand sind beim Menschen bekannt geworden.

Wo die Infectionspforte aber auch liegen mag, der Milzbrand bietet, wenn er sich verallgemeinert und zum Tode führt, stets das Bild einer typischen Septicaemie (cf. p. 149) dar; d. h. die Bacillen finden sich nach dem Tode nur in den Blutgefässen. Die Photogramme Fig. 27 und 28 auf Taf. V zeigen Organdurchschnitte von Milzbrandthieren bei mittlerer (200facher) Vergrösserung. Fig. 27 zeigt einen Acinus aus der Leber einer Maus, Fig. 28 eine Stelle aus der Nierenrinde eines Meerschweinchens. In beiden Figuren sieht man an der Lagerung der Bacillen, dass dieselben innerhalb der Blutgefässe liegen; in Fig. 27 entspricht die Lagerung dem Lauf der Capillaren des Leberacinus, in Fig. 28 erfüllen die Bacillen die Gefässe eines Nierenglomerulus. Die grossen Gefässe enthalten nach Koch beim Meerschweinchen viel, beim Kaninchen weniger, bei der Maus sehr wenig Bacillen. Bei der Maus ist die Milz ausserordentlich bacillenreich (siehe Fig. 25 u. 26, Taf. V).

Niemals werden in der unverletzten Milzbrandleiche sporenhaltige Milzbrandbacillen gefunden. So lange nämlich das Thier lebt, ist die zur Einleitung der Sporenbildung nothwendige Erschöpfung des Nähr-

[1]) Arch. f. Hyg. Bd. 8. 1888.

bodens nicht eingetreten; ist das Thier gestorben, so fehlt der zur Sporenbildung nothwendige Sauerstoff.

Das Schwein [1]), der Hund, die meisten Vögel verhalten sich immun gegen Milzbrand. Die Ratte [2]) zeigt sich meist immun. [Der Frosch ist unter gewöhnlichen Umständen immun gegen den Milzbrand; bringt man den Frosch aber, nachdem man Milzbrandsporen in seinen Lymphsack eingebracht hat, in den Brütschrank, so geht er an Milzbrand zu Grunde.

Mit den Pasteur'schen, durch Cultivirung von virulenten Milzbrandbacillen bei Temperaturen zwischen 42 und 43 ° C. hergestellten Vaccins (cf. p. 154) lassen sich Thiere, speciell Schafe und Rinder, gegen Impfmilzbrand immunisiren; gegen den natürlichen Infectionsmodus (primärer Darmmilzbrand) ist die Pasteur'sche Schutzimpfung nicht mit Sicherheit zu verwenden, wie durch Koch nachgewiesen worden ist. Hankin [3]) stellte im Koch'schen Institute aus Milzbrandculturen eine giftige Albumose dar, die, in sehr kleiner Dosis Mäusen und Kaninchen einverleibt, Immunität gegen Milzbrand hervorruft. Wooldridge vermochte durch Einverleibung einer aus dem normalen Thierkörper ohne Mitwirkung von Bakterien hergestellten bestimmten Eiweisslösung Immunität gegen Milzbrandinfection hervorzurufen (cf. oben p. 157).

Der Milzbrandbacillus nimmt aus wässerigen Anilinfarbstofflösungen die Farbe schnell auf; er färbt sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

Wir hatten uns oben (p. 87) vorgenommen, bei Gelegenheit des Milzbrandbacillus auf die Sporenfärbung einzugehen. Wie wir bereits (p. 62) sahen, verhalten sich Bacillensporen bei kurzdauernder Behandlung der Präparate mit der kalten Farblösung so, dass sie die Färbung hierbei nicht annehmen, während das Bacillenprotoplasma bei dieser Behandlung ja ohne Weiteres gefärbt wird. Fig. 35 auf Taf. VI zeigt

---

[1]) Nach Crookshank (cf. Centr. f. Bakt. Bd. 8. p. 407) können Schweine an Milzbrand erkranken.

[2]) Weisse Ratten erliegen nach Metschnikoff (Ann. de l'Inst. Pasteur 1890. No. 4) wiederholter Milzbrandimpfung stets. — Nach G. Frank (Centr. f. Bakt. Bd. 8. 1890. No. 10) sind weisse Ratten dadurch stets sicher tödtlich mit Milzbrand zu inficiren, dass man ihnen einen Seidenfaden mit angetrockneten Milzbrandsporen (cf. oben p. 29) in die Bauchhöhle bringt. — Nach Behring und Nissen (Zeitschr f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 418) sind besonders jüngere weisse Ratten empfänglich für Milzbrand. Verschiedene Rattensorten verhalten sich verschieden. Ceteris paribus wirkt am sichersten stets die Verimpfung von Blut oder Organstückchen, weniger sicher die Verimpfung frischer Agarcultur, noch weniger sicher die Verimpfung von Seidenfäden mit angetrockneten Sporen.

[3]) Brit. med. Journ. October 1889.

Milzbrandfäden mit Sporen; das Präparat ist mit kalter Farblösung kurz behandelt. Das Bacillenprotoplasma ist gefärbt, die Sporen sind ungefärbt geblieben. Die Methoden, welche angegeben sind, die Sporen zu färben, kommen nun alle darauf hinaus, dass man die Präparate mit intensiv färbenden Lösungen bei höherer Temperatur längere Zeit behandelt, dass man also alle drei Momente berücksichtigt, die, wie wir sahen (p. 81), für die Intensität der Färbung in Betracht kommen. Was die Qualität der Farblösung angeht, so würde ich stets lieber die Ehrlich'sche (anilinwasserhaltige) als die Ziehl'sche (carbolwasserhaltige) Lösung anwenden, da die erstere aus oben (p. 82) näher dargelegten Gründen intensiver färbt als letztere.

Stets ausgezeichnete Sporenfärbung erhält man, wenn man auf folgende Weise verfährt: Man macht sich zunächst von dem sporenhaltigen Material ein Deckglaspräparat in der gewöhnlichen Weise zurecht, lässt es lufttrocken werden und fixirt es in der Flamme. Dann giesst man ein Uhrschälchen bis nahe zum Rande voll frisch bereiteter Ehrlich'scher Anilinwasser-Fuchsin-Lösung (cf. p. 81), welche nicht filtrirt zu werden braucht. Nun wirft man das Deckglas so auf die Farblösung, dass es, mit der Präparatenschicht nach unten, auf der Farbflüssigkeit schwimmt. Sollte es untersinken, so schadet das nicht viel.

Nun wird das Uhrschälchen mit der Lösung und dem Präparate erhitzt. Macht man dieses Erhitzen nicht nach gewissen zweckmässigen Regeln, so zerspringt Einem das Uhrschälchen sehr häufig; und das ist der Grund, weshalb viele Praktiker dieses Erhitzen im Uhrschälchen verwerfen. Folgendermassen aber vermeidet man das Zerspringen der Schälchen mit Sicherheit: Man benutzt zum Erhitzen nur eine sehr kleine Flamme, eine Flamme, die nicht höher als etwa 2 cm ist. Benutzt man den Bunsen'schen Brenner, so sperrt man die Luftzufuhr zur Flamme ab und schraubt dann die Flamme bis zur angegebenen Grösse hinunter[1]; benutzt man die Spirituslampe, so regulirt man die Grösse der Flamme an dem Dochte. In die kleine Flamme hinein bringt man nun das mit einer starken Pincette am Rande erfasste Uhrschälchen so, dass nur seine Mitte erhitzt wird. Ist das Schälchen etwa 2 bis 3 Secunden in der Flamme geblieben, so bewegt man dasselbe langsam in vertikaler Richtung bis etwa zur Höhe von 10 cm oberhalb der Flamme. Während dieser Zeit wird das Schälchen durch die vertikal von der Flamme aufsteigenden Heiz-

[1]) Ausgezeichnet für diesen Zweck sind die sogenannten Mikrobrenner, kleine Bunsen'sche Brenner mit engem Rohr, bei denen ein Zurückschlagen der Flamme unmöglich ist.

gase erhitzt. Nun geht man sofort wieder in die Flamme hinunter, bleibt darin wieder einige Secunden, geht wieder in die Höhe, wieder hinunter, und so fort, bis die Flüssigkeit beginnt Blasen zu entwickeln. In diesem Moment bricht man die Erhitzung ab, stellt das Schälchen auf den Tisch und lässt dasselbe eine Minute lang stehen. Nun erhitzt man wieder von Neuem bis zur Blasenbildung, lässt dann wieder eine Minute lang stehen. So erhitzt man das Schälchen etwa 5 Mal und lässt dasselbe eben so oft je eine Minute lang stehen.

Die Sporen — nicht nur die Milzbrandbacillensporen, sondern überhaupt vorhandene Bacillensporen — haben nun eine intensive Färbung, in unserm Falle eine Fuchsinfärbung, angenommen. Man bringt nun das Präparat, ohne es in Wasser abzuspülen, aus der heissen Farblösung in ein Uhrschälchen mit 3proc. Salzsäure-Alcohol (p. 85), und zwar so, dass die Präparatenseite nach oben gekehrt ist. Hier bleibt das Präparat etwa eine Minute. Zweckmässig bewegt man es in dieser Flüssigkeit (mit der Pincette) öfters hin und her. Nun wird das Präparat mit Wasser abgespült. Dasselbe wird jetzt makroskopisch ziemlich oder vollständig farblos erscheinen; denn bei der Einwirkung des stark entfärbenden Salzsäure-Alcohols haben nur die Sporen die Färbung behalten; alles Uebrige ist entfärbt worden. Nun färbt man das Präparat noch ganz kurz mit kalter wässeriger Methylenblaulösung nach, spült es wiederum mit Wasser ab, trocknet es und kittet es mit Balsam auf den Objectträger auf.

Betrachtet man das Präparat jetzt mikroskopisch, so findet man die Sporen wundervoll tiefroth tingirt, während das Bacillenprotoplasma blau gefärbt ist. Fig. 36 auf Taf. VI zeigt ein solches Milzbrandsporenpräparat bei 1000facher Vergrösserung. Die tief dunkelen Stellen entsprechen den fuchsinroth gefärbten Sporen; die im Photogramm heller erscheinende Bacillensubstanz ist im Präparat blau gefärbt.

Tafel VII. Fig. 39, zeigt Bacillen mit endständigen Sporen (Tetanus) bei einfacher, kurz angewendeter Färbung mit kalter Fuchsinlösung; hier sind die Sporen ungefärbt geblieben, während sich das Bacillenprotoplasma gefärbt hat. In Fig. 40 sind Bacillen mit endständigen Sporen (Faulflüssigkeit) dargestellt, bei denen in der oben geschilderten Weise eine Contrastfärbung der Sporen und der Bacillensubstanz hergestellt ist.

Statt der Ehrlich'schen Fuchsinlösung kann man übrigens auch sehr gut die entsprechende Gentianaviolettlösung (cf. p. 82) zur Sporenfärbung anwenden. Man färbt dann nach der Entfärbung der Bacillensubstanz das Präparat mit Bismarckbraun nach.

2. Der Bacillus des malignen Oedems.

Der Bacillus des malignen Oedems (Bacillus oedematis maligni, vibrion septique) wurde 1881 von R. Koch[1]) entdeckt. Er kommt in ganz ausserordentlicher Verbreitung in unserer Umgebung vor. Besonders in gedüngter Gartenerde finden wir ihn regelmässig, ferner in Schmutz und Staub, in Abwässern der Haushaltung; auch in dem Darmkanal der Thiere scheint er sich regelmässig vorzufinden.

Der genannte Bacillus ist etwas schmäler als der Milzbrandbacillus, ungefähr von derselben Länge wie dieser, hat aber im Gegensatz zum Milzbrandbacillus nicht scharf abgeschnittene, sondern abgestutzte, abgerundete Enden. Er zeigt eine schwache Eigenbeweglichkeit, welche durch Geisseln vermittelt wird, die nicht nur an den Enden, sondern auch an den Längsseiten des Bacillus in grösserer Anzahl angeheftet sind (cf. p. 14). Die Methode der mikroskopischen Darstellung dieser Geisseln ist oben (cf. p. 66, Anm. 1) beschrieben.

Der Bacillus ist ein strenger, obligater Anaërobe. Er wächst auf den gewöhnlichen Nährböden bei Zimmer- und Brüttemperatur, aber nur unter Sauerstoffabschluss. (Die Züchtungsmethoden siehe oben p. 123 ff.). Taf. VII, Fig. 38, zeigt ein Gelatineröhrchen, in welchem die Gelatine zunächst geschmolzen wurde, um dann mit einer geringen Menge oedembacillenhaltigen Gewebssaftes der Maus vermischt zu werden. Man sieht, wie sich in den unteren, d. h. vom Sauerstoff abgeschlossenen Theilen der Gelatine eine Anzahl Colonien der Oedembacillen entwickelt haben. Dieselben bilden kugelförmige, mit Flüssigkeit erfüllte Hohlräume.[2]) Der Bacillus des malignen Oedems verflüssigt also, wie wir sehen, die Gelatine.

Der Bacillus bildet mittelständige Sporen.

Eine sehr grosse Anzahl von Thierspecies ist für die Infection mit dem Bacillus empfänglich. Es sind aber zum Zustandekommen der Infection besondere Bedingungen nöthig. Eine einfache cutane Impfung, wie sie beim Milzbrand zum Zustandekommen der Infection genügt, hat hier keinen Erfolg. Der vorhandene Sauerstoff macht eine Vermehrung des Bacillus unmöglich. Legt man dagegen bei einem empfänglichen Thiere (besonders Meerschweinchen und Mäuse

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 53 ff.

[2]) Das Aussehen der Culturen wurde zuerst von Liborius (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 159) beschrieben.

eignen sich dazu) eine subcutane Hauttasche an, indem man die Cutis nach Enthaarung der zu operirenden Stelle durchtrennt und dann mit dem Scalpellstiel oder der Pincette das subcutane Gewebe lockert, und bringt man dann eine gewisse Quantität des Infectionsstoffes (man darf nicht allzuwenig nehmen), z. B. eine kleine Messerspitze von Gartenerde, welche Sporen der Oedembacillen enthält, in die subcutane Tasche hinein, so sieht man nach Verlauf von einem bis zwei Tagen das Thier zu Grunde gehen. Bei der Section findet man ein allgemeines subcutanes Oedem und hierin massenhaft die beschriebenen Bacillen. In dem sauerstoffhaltigen Blute konnten die Bacillen nicht zur Vermehrung gelangen, sie fehlen deshalb bei der sofort nach dem Tode vorgenommenen Section im Blute und den inneren Organen; sie sind lediglich in dem sauerstoffarmen Subcutangewebe zu finden, wo sie sich haben vermehren können. Bleibt das Thier nach dem Tode liegen, so dringen nun die Oedembacillen aus dem Subcutangewebe in den sauerstoffarmen Organismus vor und durchwuchern schrankenlos alle Organe.

Am allerempfänglichsten für das maligne Oedem scheint sich die Maus zu verhalten. Die Maus zeigt bezüglich der Vertheilung der Bacillen in ihrem Körper ein von dem beschriebenen abweichendes Verhalten. Wir finden im Mäusekörper schon bei den ersten Krankheitssymptomen Bacillen im Blute, namentlich in der Lunge.[1]) Die Bedingungen für die Vermehrung der Bacillen in dem Körper der Maus scheinen so günstige zu sein, dass gleich von vornherein die Bacillen in die Organe vordringen und die Gefässe durchbrechen; das hat dann zur Folge, dass schon frühzeitig die Bacillen durch das Blut in die Lunge etc. verschleppt werden.[2]) Fig. 37 auf Taf. VII zeigt Oedembacillen im Saft der Maus bei 1000facher Vergrösserung.

Zwei Fälle von malignem Oedem beim Menschen haben Brieger und Ehrlich[3]) beschrieben. Es handelte sich um zwei Typhuskranke, die drei Tage nach der Application einer Moschusinjection, mit welcher zufällig Keime des malignen Oedems in das Unterhautgewebe gebracht worden waren, an malignem Oedem zu Grunde gingen. Nur unter dem Einflusse schwächender Momente (in den citirten Fällen des Typhus) scheint der Mensch für die Infection mit dem malignen Oedem empfänglich werden zu können. Eine Infection gesunder Menschen ist bisher nicht beobachtet.

---

1) Koch, l. c. p. 54.
2) cf. C. Fraenkel, Grundriss der Bakterienkunde. 2. Aufl. 1887. p. 220.
3) Berl. klin. Woch. 1882. No. 44.

Einen Fall von Mischinfection von malignem Oedem und Milzbrand hat Koch[1]) bei einem Meerschweinchen beschrieben.

Empfänglich sind für die Infection mit malignem Oedem Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen, Kälber, Schafe, Pferde, Esel, Schweine, Katzen, Hunde, Hühner, Tauben, Enten. Immun sollen sich Rinder verhalten. Die Passage durch den Körper der weissen Ratte soll die Virulenz des Bacillus abschwächen (Cornevin). Verschiedene Thierspecies können gegen die Infection immunisirt werden.

Der Bacillus des malignen Oedems färbt sich mit kalten wässerigen Farbstofflösungen gut; er färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (cf. p. 87 ff.).

3. Der Tetanusbacillus.

Dass der Wundstarrkrampf eine von einem Individuum auf das andere übertragbare Infectionskrankheit sei, wurde zuerst von Carle und Rattone[2]) 1884 festgestellt. In demselben Jahre fand dann Nicolaier[3]) in Göttingen eine Gartenerde, welche, subcutan auf Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen übertragen, die Erkrankung und den Tod der Thiere an Tetanus veranlasste. Die Krankheit liess sich, durch Uebertragung des Wundeiters, von Thier zu Thier weiter fortpflanzen. In der Umgebung der Infectionsstelle fand sich, und zwar stets in Gesellschaft anderer Mikroorganismen, ein langer, dünner, borstenförmiger Bacillus mit einer endständigen Spore (Köpfchenspore). Diesen Bacillus reinzuzüchten gelang nicht. Dann fand Rosenbach[4]) in einem Falle von Frostgangraen beim Menschen, der sich mit Tetanus complicirte, die Nicolaier'schen Stäbchen wieder, constatirte auch die Infectiosität des diese Stäbchen enthaltenden Materiales für Versuchsthiere. Eine Reinzüchtung gelang aber auch Rosenbach nicht. Sie gelang auch vielen anderen Untersuchern nicht, die im Uebrigen den characteristischen Bacillenbefund in ihren Fällen meist bestätigen konnten.

Erst Kitasato[5]) ist es gelungen, die Stäbchen mit den Köpfchensporen, welche übrigens als exquisit anaërobe Organismen auch vorher schon erkannt waren, reinzuzüchten, und zwar auf folgende Weise: Auf schräg erstarrtem Blutserum oder Agar wurde Tetanuseiter aus-

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 67.
[2]) Giornale della R. accad. di med. di Torino. 1884.
[3]) Deutsche med. Woch. 1884. No. 52.
[4]) Langenb. Arch. Bd. 34. 1886.
[5]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889.

gebreitet; die Gläschen wurden bei 36—38° C. gehalten. Nach 48 Stunden fanden sich ausser anderen Bakterien auch borstenförmige Bacillen reichlich. Jetzt kam die Cultur auf 3/4 bis 1 Stunde in das vorher auf 80° C. erhitzte Wasserbad, wobei die vegetativen Formen zerstört werden mussten. Nun wurde Nährgelatine mit einer Oese der Cultur gemischt und in Schälchen ausgegossen, in welche Wasserstoff (cf. oben p. 124) geleitet wurde. Diese Schälchen wurden bei 18—20° C. gehalten. Nach einer Woche fing hier die Bildung isolirter Colonien an, welche natürlich Reinculturen darstellten, und durch deren subcutane Einbringung bei Versuchsthieren jedesmal Tetanus erzeugt werden konnte.

Später gelang es Kitt[1]), aus Tetanuseiter auch ohne Zuhülfenahme der Erhitzungsprocedur sichere Reinculturen des Tetanusbacillus zu gewinnen. Das Ausgangsmaterial, welches nicht zu sehr durch fremde Spaltpilze verunreinigt sein darf, wurde mit sterilem Wasser stark verdünnt, und die Flüssigkeit dann in oberflächlichen Impfstrichen (cf. p. 122) auf Pferde- oder Schafblutserum aufgeimpft. Die Culturen wurden in einer Atmosphäre gehalten, die nach der Buchner'schen Methode (p. 123) sauerstofffrei gemacht wurde.

Der Tetanusbacillus resp. seine Dauerform finden sich in grosser Verbreitung in unserer Umgebung. In Erde, Staub, Kehricht sind Tetanuskeime anzutreffen; auch in Thierexcrementen (Pferd, Rind) hat man sie öfters nachgewiesen.

Der Tetanusbacillus ist etwas kleiner als der Bacillus des malignen Oedems, liegt oft einzeln; in den Culturen zeigt er sich aber oft zu langen Fäden ausgewachsen. Er hat eine deutliche, aber wenig lebhafte Eigenbewegung. Sporentragende Stäbchen sind übrigens stets unbeweglich (cf. p. 15). Der Bacillus ist obligat anaërob.

Er wächst, wenn man seine anaëroben Eigenschaften berücksichtigt, auf den gebräuchlichen Nährböden, bei Brüttemperatur besser als bei Zimmertemperatur; unter 14° C. findet kein Wachsthum statt. In Gelatine und Agar zeigt die Cultur feine strahlige Ausläufer (federartiges, distelartiges Aussehen). Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Die Culturen haben einen widerwärtigen Geruch.

Der Bacillus bildet endständige, kugelrunde Sporen, die dicker sind als der Bacillus. Dieselben werden bei Brüttemperatur in etwa 30 Stunden, bei 20—25° C. erst nach 7 Tagen gebildet. Die Sporen ertragen im feuchten Zustande eine einstündige Erhitzung

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 10.

auf 80 ° C; dagegen werden sie durch einen 5 Minuten langen Aufenthalt bei 100 ° C. im Dampfapparate getödtet.

Fig. 39 auf Taf. VII zeigt sporentragende Bacillen, welche aus einer Agarstichcultur [1]) entnommen sind.

Brieger hat eine Reihe von Alkaloiden aus Tetanusculturen dargestellt, von denen namentlich das Tetanin ($C_{13} H_{30} N_2 O_4$) äusserst giftig und starrkrampferregend wirkt.

Für den Menschen, ferner für Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Hammel, Pferde, auch für Hunde (Kitt) ist der Tetanusbacillus pathogen. Werden die Thiere mit unreinem, ausser Tetanuskeimen noch andere Keime enthaltenden Materiale (Staub, Erde) inficirt, wie es bei der natürlichen Infection die Regel ist, so findet sich bei der Section an der Infectionsstelle Eiter, welcher (ausser anderen Bakterien) sporentragende Tetanusstäbchen enthält. Wird die Infection hingegen mit einer Reincultur bewirkt, so ist kein Eiter vorhanden, und es finden sich nun nur sporenfreie Stäbchen an der Infectionsstelle. Nie finden sich Bacillen an anderen Stellen des Körpers als an der Infectionsstelle (cf. p. 149).

Behring und Kitasato haben festgestellt, dass das Blutserum von Thieren (Kaninchen und Mäusen), die künstlich gegen Tetanus immunisirt wurden (cf. oben p. 158), tetanusgiftzerstörende Eigenschaften hat. Die Eigenschaften zeigt dieses Blutserum sowohl im Reagenzglase wie im Thierkörper; es gelingt durch Einverleibung des genannten Blutserums tetanusempfängliche Thiere (Mäuse) gegen Tetanus zu immunisiren, und es gelingt dadurch auch, bereits an Tetanus erkrankte Thiere zu heilen.

Der Tetanusbacillus färbt sich gut bei kurzer Behandlung mit kalten wässerigen Farblösungen; er färbt sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

4. Der Rauschbrandbacillus.

Vielfach mit Milzbrand verwechselt wurde früher eine Krankheit, welche zuerst 1876 von Feser und Bollinger als „Rauschbrand" fixirt und so vom Milzbrande getrennt wurde. Der Rauschbrand [2]) (charbon symptomatique) ist eine über die ganze Erde verbreitete, jedoch immer nur in bestimmten Gegenden heimische, sehr häufig mit

---

[1]) Diese Cultur verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Kitasato.

[2]) Die folgende Schilderung lehnt sich an die Skizze von Kitt (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 23—25) an.

Milzbrand zusammen vorkommende Infectionskrankheit, die fast nur Rinder, und zwar hauptsächlich junge (1—3 Jahre alte) Individuen, befällt und besonders in den Monaten Juni bis September auftritt, wo die Thiere auf die Weide getrieben werden. Der Krankheitsverlauf ist meist ein sehr stürmischer, fast stets tödtlicher. Die Thiere erkranken mit unregelmässig begrenzten, beim Ueberstreichen und Drücken deutlich knisternden („rauschenden", „Rauschbrand") Anschwellungen der Haut und Musculatur, besonders der Schenkel und Brust; dabei bestehen Störungen des Allgemeinbefindens und hohes Fieber, und 36—40 Stunden nach dem Beginn der Erkrankung erfolgt der Tod. Die Cadaver sind stark aufgetrieben. Das Unterhautgewebe stellt eine sulzige, gelblich oder blutig gefärbte Masse dar, welche die morsche, mit Gas durchsetzte, schwarzbraunrothe Musculatur bedeckt. In dem Gase fand Kitt 76 % Wasserstoff.

In dem erkrankten Gewebe findet sich ein specifischer Bacillus, welcher von Feser und Bollinger bereits als Erreger der Krankheit angesprochen wurde. Arloing, Cornevin und Thomas erhielten ihn in künstlicher Cultur, mit der sie Thiere erfolgreich inficiren konnten. Kitasato[1]) gelang es, den Bacillus in festen Nährböden sicher rein zu cultiviren.

Der Rauschbrandbacillus ist 3 bis 6 μ lang, 0,5 bis 0,7 μ dick. In der Cultur liegen die Stäbchen meist einzeln. Sie zeigen mässig lebhafte Eigenbewegung. Jedes Exemplar besitzt zahlreiche Geisseln wie der Bacillus des malignen Oedems (cf. p. 167). Die mikroskopische Darstellung dieser Geisseln ist oben (p. 66, Anm. 1) angegeben. In Blutserumculturen des Rauschbrandbacillus hat Loeffler[2]) gelegentlich seiner Studien über Geisselfärbung eigenthümliche, spiralig gedrehte, haarzopfähnliche Gebilde von verschiedenster Grösse angetroffen. Diese Gebilde, welche sich in Präparaten, die nach der Geisselfärbungsmethode behandelt sind, gefärbt zeigen, aber auch ungefärbt im hängenden Tropfen zu sehen sind, bestehen nach Loeffler's Ansicht vielleicht aus zusammengedrehten abgerissenen Geisseln. Diese Haarzöpfe wurden bei keiner anderen Bakterienart gefunden; sie wurden in Gelatineculturen der Rauschbrandbacillen ebenfalls vermisst.

Die Rauschbrandbacillen sind exquisite Anaëroben. Sie wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden, unter 14 ° C. nicht, bei 16—18 ° C. langsam, am besten zwischen 36 und 38 ° C. Die Rauschbrandbacillen

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890.
[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. p. 636.

verflüssigen die Gelatine; die Colonien erscheinen innerhalb derselben als kugelige, mit Flüssigkeit angefüllte Hohlräume, von denen aus die Bacillenfäden strahlig in die Gelatine hineinwachsen. Innerhalb der festen Nährsubstrate (Gelatine, Agar) findet bei dem Wachsthum Gasbildung statt. Bouillonculturen riechen nach ranziger Butter. Die Kartoffelculturen der Rauschbrandbacillen (in sauerstofffreier Atmosphäre gezüchtet) haben Aehnlichkeit mit denen der Typhusbacillen: man bemerkt nur einen feuchten Glanz auf der Kartoffelfläche; entnimmt man etwas mit der Platinnadel, so fühlt man eine dicke, weiche, sich leicht ablösende Masse, die aus den Organismen besteht. (Blücher)[1].

Der Rauschbrandbacillus bildet ovale Sporen, welche dicker sind als der Bacillus und dem einen Ende des Bacillus nahe stehen, so dass derselbe ein kolbenförmiges Aussehen bekommt. Die Sporen bilden sich in den künstlichen Culturen, bei Brüttemperatur schneller, bei Zimmertemperatur langsamer. Innerhalb des inficirten Thierkörpers bilden sich Sporen erst dann, wenn 24—48 Stunden nach dem Tode des Thieres verstrichen sind. Im Körper des kranken Thieres sowie in künstlichen Culturen werden sehr häufig Involutionsformen beobachtet; die Bacillen zeigen hier gewöhnlich mittelständige Auftreibungen, so dass Spindelformen zu Stande kommen.

Die Virulenz der Rauschbrandbacillen bleibt in den Culturen auf festem Nährboden dauernd erhalten.

Der Rauschbrandbacillus färbt sich gut mit kalten Farblösungen; er färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

Auf Menschen ist eine Uebertragung der Infection noch nicht beobachtet. Rinder, Schafe, Ziegen, Meerschweinchen sind leicht zu inficiren; Pferde, Esel, weisse Ratten zeigen nur vorübergehend locale Störungen; Schweine, Hunde, Katzen, Kaninchen[2], gewöhnliche Ratten, Enten, Hühner, Tauben erscheinen nahezu immun; Mäuse sind wenig empfänglich. Frösche sterben an der Infection, wenn sie bei 22° C. gehalten werden (Arloing, Cornevin und Thomas). Die Infection wird stets nur durch subcutane Application veranlasst (wegen der anaëroben Natur des Erregers [cf. p. 168]).

Meerschweinchen, Schafe und Rinder können künstlich

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 503.

[2]) Roger (Acad des sc. Paris. 1889) fand, dass die natürliche Immunität des Kaninchens gegen Rauschbrand durch gleichzeitig mit der Rauschbrandimpfung erfolgende Einverleibung der Stoffwechselproducte von Bac. prodigiosus, Staphylococcus aureus und von anderen Bakterienarten künstlich aufgehoben werden kann.

gegen Rauschbrandgift immunisirt werden. Kitt[1]) fand, dass getrocknetes Rauschbrandfleisch durch 6stündige Erhitzung im strömenden Dampfe von 100° C. in einen zur Immunisirung brauchbaren Impfstoff verwandelt wird.

5. Der Tuberkelbacillus.

Der Erste, welcher durch Einbringung tuberculösen Materiales experimentell Tuberculose bei Thieren erzeugte, war Klencke (1843). Weiterhin kam dann auf Grund planmässiger Experimente Villemin (1865) dazu, die Tuberculose mit Sicherheit als Infectionskrankheit anzusprechen. Durch Cohnheim und Salomonsen (1877), welche die Impfung in die vordere Augenkammer des Kaninchens einführten, wurde an der Hand dieses Infectionsmodus der sichere Nachweis geführt, dass ausschliesslich die Uebertragung tuberculösen Materiales Tuberculose hervorruft.

War durch die Untersuchungen von Villemin und von Cohnheim der infectiöse Character der Tuberculose auch so gut wie sichergestellt, so sollte es doch R. Koch vorbehalten bleiben, die Aetiologie der Tuberculose festzustellen.

Durch die Arbeiten R. Koch's[2]) wurde zunächst festgestellt, dass eine bestimmte Art von Bacillen, welche sich durch ein ganz specifisches Färbungsverhalten von den übrigen bekannten Bakterienarten unterscheidet, regelmässig und ausschliesslich bei der Tuberculose gefunden wird, ferner, dass diese Bacillen örtlich und zeitlich allen der Tuberculose eigenthümlichen Veränderungen vorangehen, und dass ihre Anzahl, ihr Erscheinen und Verschwinden in directem Verhältniss zum Verlauf der Tuberculose steht.[3]) Weiter gelang es Koch, die für die Tuberculose specifischen Bacillen künstlich zu züchten, die vollkommenste Uebereinstimmung der von dem verschiedensten Ausgangsmateriale gewonnenen künstlichen Culturen darzuthun und durch Uebertragung der durch beliebig viele Culturgenerationen hindurchgegangenen Bacillen in den Körper empfänglicher Thiere mit Sicherheit den Nachweis zu führen, dass die Tuberkelbacillen die Ursache der Tuberculose sind. Aus seinen Gesammtuntersuchungen aber konnte Koch[4]) den stolzen Schluss ziehen, „dass

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 18—19.

[2]) Vortrag in d. physiolog. Gesellsch. zu Berlin am 24. März 1882. (Berl. klin. Wochenschr. 1882. No. 15). — Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 2. 1884.

[3]) cf. Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 46.

[4]) l. c. p. 76.

die Tuberkelbacillen nicht bloss eine Ursache der Tuberculose, sondern die einzige Ursache derselben sind, und dass es ohne Tuberkelbacillen keine Tuberculose giebt."

Die Tuberkelbacillen finden sich, wie schon gesagt, bei jedem tuberculösen Process, mag derselbe nun als miliare Tuberculose, Lungen- oder Darmphthisis, Tuberculose einzelner Organe, Scrophulose der Drüsen, fungöse Entzündung der Gelenke, Lupus auftreten. Und wie bei der Tuberculose des Menschen, so finden sich die Tuberkelbacillen auch bei der Tuberculose der Thiere: bei der Perlsucht des Rindes, der Tuberculose des Pferdes, des Schweines, der Ziege, des Schafes, des Affen, Meerschweinchens, Kaninchens etc. „Am sichersten trifft man die Bacillen dort an, wo der tuberculöse Process im ersten Entstehen oder im raschen Fortschreiten begriffen ist." [1])

Bei der Hühner- (Geflügel-) Tuberculose finden sich Bacillen, die in ihrem Aussehen und in ihrem Verhalten gegen Anilinfarben mit den gewöhnlichen Tuberkelbacillen vollkommen übereinstimmen, und die von Koch früher mit den letzteren für identisch angesehen wurden. Es haben sich jedoch neuerdings (Maffucci, Koch) Unterschiede zwischen den Hühnertuberculosebacillen und den gewöhnlichen Tuberkelbacillen ergeben, die namentlich in dem Aussehen der künstlichen Culturen hervortreten; und Koch [2]) ist demnach der Ansicht, dass die Bacillen der Hühnertuberculose eine für sich bestehende, aber den echten Tuberkelbacillen sehr nahe verwandte Art darstellen. Die Frage, ob die Bacillen der Hühnertuberculose auch für den Menschen pathogen sind, ist eine noch offene. [3])

Koch hatte die Ansicht ausgesprochen, dass bei der Entstehung der Tuberkel im Gewebe hauptsächlich Wanderzellen betheiligt seien, die die Verschleppung der Bacillen von einem Orte zum anderen bewirkten. Durch den Reiz, welchen der Bacillus auf die Zelle ausübt, wird die letztere bald unfähig, ihre Wanderung weiter fortzusetzen. Es entsteht aus ihr eine epithelioide Zelle und daraus dann die tuberculöse Riesenzelle. Damit ist das Centrum für den Tuberkel geschaffen. Baumgarten [4]) ist nach seinen Untersuchungen zu der Ueberzeugung gelangt, dass bei der ersten Entstehung des Tuberkels die fixen Gewebszellen, namentlich die Bindegewebszellen, wesentlich mitbetheiligt

---

[1]) l. c. p. 17.

[2]) 10. Internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandlungen. Bd. 1. p. 39.

[3]) Nach Untersuchungen von Cadiot, Gilbert und Roger (Soc. de Biol. Oct. 1890) sind Kaninchen leicht, Meerschweinchen nur ganz ausnahmsweise mit Geflügeltuberculose zu inficiren.

[4]) cf. Lehrbuch der pathol. Mykologie. Bd. 2. 1890. p. 555 ff.

sind. Aus ihnen werden durch Karyokinese junge Zellen neugebildet, welche epithelioiden Character haben. Die Bacillen brauchen nicht durch Wanderzellen verschleppt zu werden, sondern es genügt zur Weitertransportirung der Bacillen (welche ohne Eigenbewegung sind) der Saftstrom in Verbindung mit der Wachsthumsbewegung der Tuberkelbacillen. Der histologische Befund bei der Tuberkelbildung ist übrigens ein ganz verschiedener je nach der Art des die Infection bewirkenden Materiales und je nach dem Ort, an dem sich der Tuberkel entwickelt. Die bei der Tuberkelbildung auf die Neubildung von Zellen stets folgende centrale Verkäsung ist als Nekrose der Zellsubstanz (Weigert's Coagulationsnekrose) aufzufassen, die durch den deletären Einfluss der Bacillen zu Stande kommt. Die tuberculösen Riesenzellen, welche sich bekanntlich durch randständige Kerne auszeichnen, sind nach Weigert's Ermittelungen partiell (central) verkäste (nekrotisch gewordene) Zellen.

Die Tuberkelbacillen sind feine Stäbchen von 1,6 bis 3,5 μ Länge, welche übrigens bei der Färbung mit Methylenblau dünner, mit Gentianaviolett oder Fuchsin gefärbt dicker erscheinen und häufig eine Gliederung erkennen lassen. Sie sind gewöhnlich nicht ganz gerade gestreckt, sondern zeigen leichte Biegungen und Krümmungen. Sie liegen im Gewebe meist einzeln. In künstlichen Culturen und auch dort, wo sie im Thierkörper sich unbeeinflusst von lebenden Zellen entwickeln können (in vollständig abgestorbenem Gewebe) kommt es zur Bildung typisch gestalteter Gruppirungen der Bacillen. Man sieht dann bei schwachen Vergrösserungen besonders S-förmig geschwungene, in der Mitte spindelförmig verdickte, an den Enden zugespitzte Figuren, welche aus zusammengelagerten Bacillen gebildet sind.

Eigenbeweglichkeit geht den Tuberkelbacillen vollständig ab.

Die Tuberkelbacillen wachsen, wie Koch fand, am besten auf erstarrtem Blutserum, welches man sich in der oben (p. 103) beschriebenen Weise präparirt. Die Cultivirung der Tuberkelbacillen ist eine sehr schwierige Aufgabe. „Am sichersten gelingen die Reinculturen, wenn zur Aussaat ein bacillenreicher Tuberkel oder ebensolche Substanz aus dem Innern von noch wenig verkästen Lymphdrüsen eines getödteten tuberculösen Meerschweinchens genommen wird.“ [1]) Damit die Cultur aber glückt, ist die Vermeidung irgend welcher Verunreinigungen durchaus nothwendig. Die Section des Cadavers, aus dem das Material entnommen werden soll, muss möglichst bald nach dem Tode vorgenommen werden. Die Haut wird,

---

[1]) Koch, Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 49.

nach äusserlicher Durchfeuchtung mit Sublimatlösung, mit ausgeglühter, noch heisser Schere durchschnitten; es werden darauf mit anderen durch Ausglühen sterilisirten Instrumenten die tuberculösen Organe blossgelegt und mit wiederum neuen sterilen Instrumenten einzelne Tuberkelknötchen herauspräparirt. Nachdem ein solches Tuberkelknötchen zwischen sterilen Skalpellen zerdrückt ist, wird die zerdrückte Masse mit starkem Platindraht auf das Blutserum ausgestrichen oder vielmehr in die Oberfläche desselben eingerieben. Solcher Röhrchen werden immer gleich eine grössere Anzahl inficirt, weil das eine oder das andere derselben durch fremde Keime, welche trotz aller Vorsicht sich eingeschlichen haben könnten, eventuell verloren sein könnte.

Die Tuberkelbacillen gedeihen unter 29° C. nicht, ebenso wachsen sie nicht mehr bei 42° C. Das Optimum der Temperatur liegt bei 37—38° C. Bei der letzteren Temperatur erscheinen auf dem Blutserum mikroskopisch bereits nach 5—6, makroskopisch erst nach 10—15 Tagen kleine, trockene, weisse, der Oberfläche des erstarrten Serums lose aufliegende Schüppchen von starrer, brüchiger Consistenz, welche ganz aus aneinander klebenden Bacillen bestehen. Ist die Cultur aus vereinzelten Keimen hervorgegangen, so zeigen die Colonien, bei schwacher Vergrösserung betrachtet, die oben erwähnte S-förmige, spindelartige Gestalt. Das Blutserum wird nicht verflüssigt.

Als Blutserum eignet sich zur Cultur am besten solches vom Hammel, Rind oder Kalb. Auch auf Bouillon gedeihen die Tuberkelbacillen, ebenso auf gewöhnlichem Nähragar, wenn auch nicht so gut wir auf Blutserum. Auf dem Agar kommt es zur Bildung compacter unförmlicher Massen. Nocard und Roux[1]) haben gefunden, dass ein Zusatz von 6—8 % Glycerin zu Bouillon und zu Agar dieselben viel geeigneter zum Nährboden für Tuberkelbacillen macht, als sie es ohne diesen Zusatz sind. Pawlowsky[2]) gelang es auch, die Tuberkelbacillen auf der (alkalisch gemachten) Kartoffel zu cultiviren. Die Kartoffeln müssen zu dem Zwecke in Glasröhren luftdicht eingeschlossen werden.

Die Tuberkelbacillen bewahren bei der fortlaufenden Züchtung auf künstlichem Nährboden ihre Eigenschaften sehr hartnäckig. Koch[3]) züchtete Reinculturen seit mehr als neun Jahren im Reagenzglase fort; diese Culturen, die seitdem nie wieder in einen lebenden Körper gelangten, haben sich bis auf eine geringe Abnahme der Virulenz vollkommen unverändert erhalten.

---

[1]) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1887.

[2]) Ebenda 1888.

[3]) 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandlungen. Bd. 1. p. 39.

Die Culturen der Tuberkelbacillen müssen, wenn ihre Uebertragbarkeit erhalten bleiben soll, sorgfältig vor Licht geschützt werden. Durch directes Sonnenlicht werden Tuberkelbacillen je nach der Dicke der Schicht, in welcher sie dem Sonnenlichte ausgesetzt werden, in wenigen Minuten bis einigen Stunden getödtet. Das zerstreute Tageslicht übt, wenn auch entsprechend langsamer, dieselbe Wirkung aus; die Culturen der Tuberkelbacillen sterben, wenn sie dicht am Fenster aufgestellt sind, in 5—7 Tagen ab (Koch)[1].

Nach seinen ersten Untersuchungen war Koch der Ansicht, dass der Tuberkelbacillus — sowohl in der künstlichen Cultur wie im Thierkörper — Sporen bildet: Die sporentragenden Stäbchen sind analog den sporenhaltigen Milzbrandfäden gebaut, sie sind nur viel kleiner. Der Bacillus zeigt hierbei eine deutliche Gliederung. Es sind in jedem Bacillus 2 bis 6 Glieder vorhanden, welche je eine stark glänzende, eiförmige Spore enthalten.[2] Ob diese Gebilde aber mit Sicherheit als „Sporen“ anzusprechen sind, erscheint neuerdings wieder zweifelhaft[3]. Die Tuberkelbacillen sind als solche, d. h. in ihrer rein vegetativen Form, bereits durch eine viel grössere Resistenz gegen äussere Einflüsse ausgezeichnet, als sie sonst vegetativen Bakterienzellen zukommt. Diese Resistenz findet auch in der (weiterhin ausführlich zu besprechenden) Eigenschaft des Tuberkelbacillus, aus Farblösungen erst bei intensiver Behandlung mit den letzteren (cf. p. 85) Farbstoff in sich aufzunehmen, deutlichen Ausdruck. Aus der Resistenz tuberkelbacillenhaltigen Materials gegen äussere Angriffe kann also nicht auf das Vorhandensein von Sporen geschlossen werden; diese Resistenz lässt sich ungezwungen aus den genannten Eigenschaften der Bacillensubstanz an sich erklären. Die Frage, ob Sporenbildung bei dem Tuberkelbacillus besteht, würde erst dann definitiv in positivem Sinne entschieden werden können, wenn es gelänge, an den fraglichen Gebilden eine Auskeimung zu beobachten.

Jedenfalls ist es also bis auf Weiteres nicht mehr statthaft, die in gefärbten Präparaten in den Tuberkelbacillen so häufig aufzufindenden ungefärbten Lücken als „Sporen“ anzusprechen.

Wie bereits mehrfach mitgetheilt, unterscheiden sich die Tuberkelbacillen in ihrem Färbungsverhalten dadurch von allen anderen Bakterienarten, dass sie die Färbung durch basische Anilinfarbstoffe schwerer annehmen, und dass sie dementsprechend, wenn sie einmal

[1]) 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandlungen. Bd. 1. p. 42.
[2]) Koch, Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 22.
[3]) cf. C. Fraenkel, Grundriss d. Bakterienk. 3. Aufl. 1890. p. 308.

gefärbt sind, sich auch Entfärbungsmitteln gegenüber schwerer zugänglich verhalten als andere Bakterienarten. Wenn man Tuberkelbacillen färben will, so muss man deshalb die Farbstoffe besonders intensiv einwirken lassen; man hat aber in diesem specifischen Verhalten der Tuberkelbacillen ein Mittel, dieselben mit Sicherheit nachzuweisen. Der Praktiker, der die Methoden zur Darstellung der Tuberkelbacillen im gefärbten Präparate beherrscht, hat damit die Fähigkeit, im gegebenen Falle zu entscheiden, ob es sich um Tuberculose handelt oder nicht.

Die ursprüngliche Methode, welche Koch zur Sichtbarmachung der Tuberkelbacillen anwandte, war folgende [1]: Der Schnitt oder das Trockenpräparat kam auf 20—24 Stunden bei Zimmertemperatur (auf $1/2$ bis 1 Stunde bei 40^{0} C.) in eine Mischung von

200 ccm dest. Wasser,
1 ccm concentr. alcohol. Methylenblaulösung,
0,2 ccm 10 proc. Kalilauge.

Das dann dunkelblau gefärbte Präparat wurde in Wasser abgespült und gelangte für 15 Minuten in eine concentrirte wässerige Lösung von Vesuvin (Bismarckbraun). Dann wurde das Präparat in Wasser abgespült und in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt, um zur Untersuchung in Balsam eingeschlossen zu werden. Die Tuberkelbacillen erscheinen dann blau, die übrigen Bakterien und die Kerne des Gewebes braun.

Ehrlich [2]) erreichte eine erheblich schnellere und intensivere Färbung der Tuberkelbacillen durch Anwendung seiner bereits oben (p. 81) besprochenen Anilinwasser-Farbstofflösungen. Ferner fand Ehrlich die schon mehrfach erwähnte Thatsache, dass die Tuberkelbacillen, einmal gefärbt, sich gegen starke Entfärbungsmittel (verdünnte Säuren) resistent verhalten.

Das von Ehrlich construirte und von Koch acceptirte Färbungsverfahren resp. Darstellungsverfahren der Tuberkelbacillen gestaltet sich danach folgendermassen: [3]) Die Objecte (Schnitte oder Deckglaspräparate) kommen für mindestens 12 Stunden bei Zimmertemperatur (oder kürzere Zeit bei höherer Temperatur) in die Ehrlich'sche Lösung, werden dann einige Secunden mit 25 proc. Salpetersäurewasser behandelt, dann einige Minuten in 60 proc. Alcohol gespült und hinterher in verdünnter Bismarckbraun- resp. Methylenblaulösung

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 5. — Berl. klin. Woch. 1882. No. 15.

[2]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1882. p. 270.

[3]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 10.

(je nachdem die erste Färbung mit Violett oder Fuchsin vorgenommen wurde) nachgefärbt. Dann nochmaliges Spülen in 60 proc. Alcohol, Entwässern in absolutem Alcohol, Aufhellen in Cedernöl. Nun kommt die mikroskopische Untersuchung des Präparates. Dasselbe wird zum Schluss in Balsam eingelegt, wenn es conservirt werden soll.

Ziehl[1]) empfahl dann seine oben (p. 82) angegebene Carbolsäurefuchsinlösung zur Färbung der Tuberkelbacillen.

B. Fraenkel[2]) empfahl, bei Deckglaspräparaten die Entfärbung und die Nachfärbung gleichzeitig vorzunehmen. Das mit Anilinwasserfuchsin gefärbte Deckglaspräparat gelangt in eine Flüssigkeit, welche aus 50 Wasser, 30 Alcohol, 20 Salpetersäure und Methylenblau bis zur Sättigung besteht. Wenn das Präparat blau erscheint, wird es in Wasser abgespült und dann in Wasser untersucht.

Der Verf. wendet seit Jahren zur Darstellung der Tuberkelbacillen in Deckglastrockenpräparaten folgendes Verfahren[3]) an: Das mit Sputum etc. auf die bekannte Weise (cf. p. 50) hergestellte, an der Luft getrocknete und zur Fixirung 3 Mal durch die Flamme gezogene Deckglas bringt man

1) mit der Präparatenschicht nach unten auf die Oberfläche frisch bereiteter Ehrlich'scher Anilinwasser-Fuchsinlösung (p. 81), welche in ein Uhrschälchen eingefüllt ist (Filtriren ist nicht nothwendig) und das Schälchen fast vollständig erfüllt. Sinkt das Gläschen in der Flüssigkeit unter, so schadet dieses nichts.

2) Das Schälchen wird mit starker Pincette am Rande erfasst und über kleiner Flamme in der oben (p. 165) geschilderten Weise bis zur Blasenbildung der Flüssigkeit erhitzt.

3) Das Schälchen wird jetzt hingestellt und bleibt eine Minute lang ruhig stehen.

4) Das Deckglas wird mit kleiner Pincette aus der Farbe genommen, umgedreht (so dass die Präparatenschicht nach oben sieht) und in ein Uhrschälchen mit 3 proc. Salzsäure-Alcohol (cf. p. 85) gelegt; hierin wird das Deckglas eine Minute lang hin und her, auf und ab bewegt.

5) Das Deckglas wird mit der Pincette aus dem Säure-Alcohol genommen, und es wird nun durch einen Wasserstrahl (jede Wasserflasche kann man dazu benutzen) zunächst die Flüssigkeit zwischen den

---

[1]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1882. p. 451.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1884. No. 13.

[3]) Dies Verfahren ist durchaus zuverlässig. Damit soll aber nicht gesagt sein, dass es in diesem Punkte vor den anderen citirten Methoden etwas voraus hätte.

Branchen der Pincette weggespült, dann das Gläschen selbst beiderseitig abgespült.

6) Aufträufeln weniger Tropfen verdünnter wässeriger (oder wässerig-alcoholischer) Methylenblaulösung mit der Pipette. Die Färbung soll hier nur ganz gering werden, damit die Bacillenfärbung nicht hier und da durch die Grundfärbung verdeckt werde.

7) Abspülen in Wasser. (Zunächst werden wieder die Pincettenbranchen ausgespült).

8) Das Deckglas wird mit den Fingern erfasst, die Präparatenseite kräftig abgeblasen, die leere Seite mit Hülfe eines Läppchens abgewischt.

9) Nach dem Trocknen dreimaliges Ziehen durch die Flamme, wie wenn das Präparat noch einmal fixirt werden sollte.

10) Aufkitten mit Xylol-Balsam auf den Objectträger.

Das Präparat ist nun zur Untersuchung fertig. Die Methode ist eine absolut zuverlässige. Sämmtliche gefärbte Tuberkelbacillen sind stets intensiv, und mit gleicher Intensität, gefärbt. Daraus folgt, dass es nicht möglich ist, dass bei dieser Behandlung Tuberkelbacillen ungefärbt bleiben; denn sonst müsste man hier und da auch Exemplare finden, die, als Uebergänge zwischen den intensiv gefärbten und den gar nicht gefärbten Bacillen, nur wenig intensiv gefärbt wären. Diese Betrachtung ist nicht überflüssig; denn wir wissen durch Untersuchungen von Ehrlich[1]), dass die in einem und demselben Präparate vorhandenen Tuberkelbacillen sich gegen eine und dieselbe Farbstofflösung durchaus nicht gleichartig zu verhalten brauchen.

Das unter Nummer 9) aufgeführte dreimalige Ziehen des Präparates durch die Flamme vor dem Einschlusse in Balsam bezweckt die Erreichung einer dauernden Haltbarkeit der Färbung der Tuberkelbacillen. Wie nämlich bereits Koch fand, entfärben sich die gefärbten Tuberkelbacillen im Präparate sehr leicht und gern wieder. Manchmal bereits nach mehreren Stunden sieht man die Bacillen verblassen und dann unsichtbar werden. Unna[2]) hat den Nachweis geführt, dass die im Präparat zurückgebliebenen Spuren der zu der Entfärbung der Kerne etc. benutzten Säure es sind, welche diese Entfärbung bewirken; und er begründete auf diese Erkenntniss eine neue Methode der Darstellung resp. Conservirung von gefärbten Präparaten, die sich zunächst auf Leprabacillen und auf

---

[1]) Charité-Annalen. 1886.

[2]) Monatshefte f. pract. Dermatol. Ergänzungsheft. 1885.

Schnittpräparate bezog. Die Leprabacillen theilen nämlich die Eigenschaft, sich in den Präparaten gern zu entfärben, mit den Tuberkelbacillen. Unna bringt bei seiner „Antrocknungsmethode“ (cf. oben p. 76) die Schnitte nach der Entfärbung in Wasser, wäscht sie dort gründlichst aus, überträgt sie nun nicht in Alcohol, sondern gleich aus dem Wasser auf den Objectträger und trocknet sie dort an. Darauf erhitzt er den Objectträger von unten, bis der Schnitt anfängt, leicht glänzend zu werden. Bei diesem ziemlich starken Erhitzen werden die letzten Spuren Säure aus dem Schnitte entfernt. Der Schnitt wird dann nach dem Abkühlen mit einem Tropfen Xylol-Balsam beträufelt und mit dem Deckglas bedeckt. Die Bacillenfärbung ist in solchen Präparaten dauernd haltbar.

Dasselbe Princip der Erhitzung nach der Entfärbung hat sich mir [1]) auch bei Tuberkelbacillenschnitten und weiter auch bei Tuberkelbacillendeckglaspräparaten sehr bewährt. Die Bacillenfärbung bleibt unverändert haltbar.

Hat man in der Praxis eine bestimmte Sputumprobe auf Tuberkelbacillen zu untersuchen, so fertigt man sich von verdächtigen Theilen des Sputums mehrere Deckglastrockenpräparate durch Ausstreichen des Materiales in möglichst dünner Schicht (wozu man ein Scalpell oder einen starken Platindraht benutzen kann) an und behandelt dieselben nach einer der oben angegebenen Färbungsmethoden. Man wird die Bacillen zunächst in den eitrigen Theilen des Sputums zu suchen haben und namentlich auf kleine käsige Bröckchen zu fahnden haben, welche oft direct von der Wand einer Caverne stammen, und in denen man die Bacillen am zahlreichsten findet.

Wenn es sich dann um die Untersuchung des fertigen Präparates unter dem Mikroskope handelt, so muss man nach rothgefärbten Bacillen suchen. [2]) Hat man wirklich fuchsingefärbte Stäbchen vor sich, so können diese nichts anderes sein als Tuberkelbacillen. Man muss sich aber sicher davon überzeugen, dass man es

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 22. p. 474.

[2]) Damit dies geschehen kann, d. h. damit man im Stande ist, die Farbe sicher zu erkennen, ist es vor Allem nothwendig, die Beleuchtung so zu wählen, dass jede Spur eines „Structurbildes“, jede Spur von Diffractionserscheinungen an den Grenzen der Objecte, vermieden wird. Zu dem Zwecke ist also (cf. p. 48, 60) mit völlig offenem Condensor zu arbeiten und der letztere in eine solche Entfernung von dem Objecte zu bringen, dass die Beleuchtung maximal ist. Namentlich für Untersuchungen bei Lampenlicht beherzige man diese Mahnung, wenn man nicht gelegentlich in die gröbsten Irrthümer verfallen will. Erscheint die Lampenlichtbeleuchtung zu blendend, so kann die Helligkeit durch blaue Gläser (cf. p. 61, Anm. 1) gemindert werden.

auch wirklich mit Stäbchen zu thun hat. Nicht alles, was in einem solchen Präparate roth erscheint, bedeutet Tuberkelbacillen. Roth erscheint in einem solchen Präparate ganz im Allgemeinen alles, was sich der Entfärbung durch den Säure-Alcohol widersetzt hat. Zunächst können solche Stellen des Präparates, in denen das ausgestrichene Material dickere Schichten bildet, einen röthlichen bis rothen Farbenton behalten haben. Diese grösseren, meist rundlichen Stellen wird Niemand mit Bacillen verwechseln. Auch Schimmelpilzsporen, ferner Bacillensporen unter Umständen, treten in solchem Präparate roth gefärbt auf. Ihre runde Gestalt sichert sie ebenfalls vor der Verwechselung mit Tuberkelbacillen. Dann kommt es z. B. auch vor, dass in einem Haufen von Mikrococcen (die in jedem Sputum anzutreffen sind) einzelne Zellen, einzelne Coccen, eine röthliche Farbe zeigen, während die anderen, gleichgestalteten Zellen rein blau erscheinen. Die röthlichen Zellen haben ohne Zweifel dem Eindringen des Entfärbungsmittels einen grösseren Widerstand entgegengesetzt als die blauen; sie sind als resistentere Zellen aufzufassen. Ihre Gestalt sichert sie vor der Verwechselung mit Bacillen. Endlich zeichnen sich auch Fragmente von Haaren, Fragmente von verhornten Epidermiszellen, die zufällig in das Präparat gelangt sind, dadurch aus, dass sie die einmal angenommene Rothfärbung dem Entfärbungsmittel gegenüber energisch festhalten. Alle diese Dinge wird aber Niemand mit Bacillen verwechseln. Zu Verwechselungen Anlass könnten dagegen kleine Fettcrystallnadeln (Cholesterin) geben, welche in solchen Präparaten ebenfalls roth erscheinen; aber doch nur dem ganz Ungeübten könnte diese Verwechselung begegnen. Die Tuberkelbacillen haben eine so typische Form, dass diese zusammen mit dem typischen Verhalten bei der Färbung eine Verwechselung dieser Gebilde mit etwas anderem unmöglich macht. Taf. VIII, Fig. 43, zeigt ein Sputumpräparat mit Tuberkelbacillen bei 1000 facher Vergrösserung.

Wie im Sputum, so lassen sich natürlich auch im Darminhalt (bei phthisischen Diarrhöen) die Tuberkelbacillen auf die geschilderte Weise nachweisen. Die erste derartige Beobachtung machte Lichtheim.[1])

Will man Tuberkelbacillen in Schnitten darstellen, so verfährt man am besten nach der oben (p. 179) angegebenen Ehrlich-Koch'schen Methode. Man bekommt auf diese Weise Präparate, in denen die Tuberkelbacillen mit ausserordentlicher Präcision und

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1883. No. 1.

Deutlichkeit erscheinen. Leider sind die Präparate, oder vielmehr ist die Bacillenfärbung, wenig haltbar. Um haltbare Schnittpräparate herzustellen, kenne ich nur einen Weg: dieselben nach der Unna'schen Antrocknungsmethode zu behandeln. Die Schnitte werden zunächst in 24 Stunden alter (cf. oben p. 82), eben filtrirter Ehrlich'scher Anilinwassergentianaviolett- (oder -Methylviolett-) Lösung bei Zimmertemperatur 12 bis 24 Stunden (oder im Brütschrank bei c. 35° C. 1 1/2 bis 2 Stunden) gefärbt, dann etwa 10 Minuten in Wasser zum vorläufigen Auswaschen überflüssigen Farbstoffes gelegt, dann in 20 proc. Salpetersäurewasser auf etwa 2 Minuten gebracht. Sie werden hier schwarzgrün. Sie kommen darauf in absoluten Alcohol, in welchem sie bis zu blassblauer Färbung (etwa eine halbe Minute lang) hin und her bewegt werden. Darauf gelangen sie in 3 bis 4 Mal erneuertes Wasser, wo sie ziemlich farblos werden. Wenn sie hier gut (etwa 10 Minuten lang) ausgewaschen sind, werden sie mit dem Spatel auf den Objectträger übertragen. Man geht hierbei am besten so vor, dass man zunächst eine Quantität Wasser mit dem Spatel auf die Mitte des Objectträgers bringt und in dieses Wasser hinein den Schnitt nachher überträgt. Dann neigt man langsam den Objectträger, lässt das Wasser abfliessen, ohne dass der Schnitt mit herunter geht, und tupft dann das noch auf und neben dem Schnitt stehende Wasser mit Fliesspapier ab. Nun erhitzt man, wie oben (p. 182) angegeben, den Objectträger, bis der Schnitt leicht glänzend wird, lässt abkühlen und kittet mit Xylol-Balsam ein Deckglas auf. Nach derartig haltbar hergestellten Präparaten sind die Photogramme 41 und 42 auf Taf. VII (Lungenphthisis und Meningealtuberculose) aufgenommen.

Auch nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.) färben sich die Tuberkelbacillen. Die Präparate müssen selbstverständlich auch hierbei erheblich intensiver als andere Bakterienobjecte mit der Farblösung behandelt werden.

Die früher (cf. p. 178) als „Sporen“ der Tuberkelbacillen gedeuteten Dinge zu färben ist bisher auf keine Weise gelungen.

Für die Tuberculose sehr empfänglich sind von Versuchsthieren vor Allem Meerschweinchen, ferner Kaninchen, Katzen, Feldmäuse. Viel weniger empfänglich sind weisse Mäuse, Hunde, Ratten, Hühner.[1]) Durch subcutane Einführung der Tuberkelbacillen,

[1]) Was die Hühner angeht, so ist hier nicht die Empfänglichkeit für die Infection mit Geflügeltuberculose, sondern die Empfänglichkeit für die Infection mit echten Tuberkelbacillen gemeint (cf. oben p. 175).

durch Einführung in die vordere Augenkammer, in die Bauchhöhle, in Venen, ferner durch Inhalation erreichte Koch bei seinen grundlegenden Arbeiten die tuberculöse Infection. Ganz besonders prompt reagiren Meerschweinchen auf die Einverleibung tuberculösen Materiales. Bringt man einem solchen Thiere tuberkelbacillenhaltiges Material in eine am Bauch angelegte Unterhauttasche, so stirbt es in 4 bis 8 Wochen an Tuberculose, die sich besonders im Netze, in Milz und Leber, auch in der Lunge localisirt zeigt.

Beim Menschen ist bekanntlich meist die Lunge Sitz der primären Erkrankung. Die Tuberkelbacillen gelangen durch Inhalation in die Luftwege. Die Eingangspforte kann aber auch von der Darmschleimhaut oder anderen Schleimhäuten oder von der äusseren Haut gebildet werden.

Die ausserordentliche Häufigkeit der Lungenschwindsucht und die erheblichen Quantitäten tuberkelbacillenhaltigen Sputums, welche täglich von den Phthisikern ausgeworfen werden, hatten den Gedanken nahegelegt, das tuberculöse Keime überall, wo Menschen wohnen, anzutreffen sind, dass wir sie womöglich mit jedem Athemzuge in uns aufnehmen, und dass es nur dem Mangel an „Disposition" zuzuschreiben ist, wenn die Mehrzahl der Menschen nicht tuberculös wird. Diese Auffassung musste nothwendig im Gefolge haben, dass Jeder, dem sein Leben lieb ist, den Phthisiker zu fliehen hatte. Von Seiten der Aerzte aber konnte nichts weiter geschehen, als dass man sich stiller Resignation ergab.

Wir verdanken Cornet[1]) eine totale Umgestaltung dieser Anschauungen. Cornet hat (im Koch'schen Institute) mehrere Jahre daran gearbeitet, die Orte, wo der Tuberkelbacillus ausserhalb des Körpers zu finden ist, zu ermitteln. Er untersuchte in allen nur erdenklichen Localitäten, in Wohnungen, Krankenhäusern, in Gefängnissen, auf der Strasse etc. Staub, der sich an den Wänden, auf Möbeln, auf Gesimsen, auf dem Fussboden etc. angesammelt hatte, auf seinen Gehalt an Tuberculosekeimen. Als Reagenz diente das Meerschweinchen, dem der Staub in eine subcutane Tasche am Bauche eingebracht wurde. Es geht aus den Cornet'schen Untersuchungen mit grösster Sicherheit hervor, dass von einer Ubiquität des Tuberkelbacillus keine Rede ist. Derselbe findet sich nur dort im Staub resp. in der Luft, wo phthisisches Sputum Gelegenheit hat anzutrocknen und dann zu verstäuben. Die Gelegenheit findet sich aber fast ausschliesslich dann, wenn das Sputum

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1888.

auf den Boden oder in das Taschentuch gespuckt wird. Cornet sieht daher mit Recht in der allgemeinen Einführung und Benutzung des Spucknapfes, welcher ein Fortschaffen und Unschädlichmachen des Sputums, bevor es vertrocknen kann, ermöglicht, das mächtigste Mittel, die Tuberculose prophylactisch einzuschränken.

In einer besonderen statistischen Arbeit[1]) hat übrigens Cornet den Nachweis geliefert, dass der dauernde Verkehr mit unreinlichen Phthisikern selbst die kräftigsten Menschen aus den gesündesten Familien, bei denen von einer besonderen Anlage zur Schwindsucht sicher keine Rede ist, der Tuberculose überantwortet.

Eine neue Aera begann nicht allein für die Tuberculoselehre, sondern für die gesammte Medicin mit der grossen Entdeckung Koch's der Heilung der Tuberculose.

Die ersten Mittheilungen über diesen Gegenstand machte Koch auf dem internationalen medicinischen Congress am 4. August 1890[2]): Koch hatte Substanzen gefunden, welche nicht allein im Reagenzglase (wie so viele andere chemische Substanzen), sondern auch im Thierkörper das Wachsthum der Tuberkelbacillen aufzuhalten im Stande sind. Koch theilte mit, „dass Meerschweinchen, wenn man sie der Wirkung einer solchen Substanz aussetzt, auf eine Impfung mit tuberculösem Virus nicht mehr reagiren, und dass bei Meerschweinchen, welche schon in hohem Grade an allgemeiner Tuberculose erkrankt sind, der Krankheitsprocess vollkommen zum Stillstand gebracht werden kann, ohne dass der Körper von dem Mittel etwa anderweitig nachtheilig beeinflusst wird.“

In einer weiteren Mittheilung[3]) (vom 13. November 1890) berichtete Koch über Versuche, die mit dem Mittel am tuberculösen Menschen angestellt waren, und die erwiesen hatten, dass auch beim Menschen der tuberculöse Process durch die Behandlung mit dem Mittel zum Stillstand gebracht werden kann. Koch betonte ferner die specifische Wirkung des Mittels auf tuberculöse Processe und damit seine Bedeutung für die Diagnosticirung zweifelhafter Fälle.

In einer dritten Mittheilung[4]) (vom 15. Januar 1891) gab Koch die Principien der Herstellung des Mittels und den Weg an, auf

---

[1]) Die Sterblichkeitsverhältnisse in den Krankenpflegeorden. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

[2]) Verhandlungen. Bd. 1. p. 46.

[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 46a. Extra-Ausgabe.

[4]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 3.

welchem er zu seiner segensreichen Entdeckung gelangt war [1]): Koch hatte beobachtet, dass sich gesunde Meerschweinchen nach der Impfung mit einer Reincultur von Tuberkelbacillen ganz anders verhalten als bereits tuberculöse Meerschweinchen, an welchen dieselbe Impfung vorgenommen wird. Bei den gesunden Thieren verklebt nach der Tuberkelbacillenimpfung in der Regel die Impfwunde und scheint in den ersten Tagen zu verheilen; erst im Laufe von 10—14 Tagen entsteht ein hartes Knötchen, welches bald aufbricht und bis zum Tode des Thieres eine ulcerirende Stelle bildet. Bei bereits tuberculösen Thieren verklebt die kleine Impfwunde auch anfangs; aber es bildet sich kein Knötchen, sondern schon am nächsten oder zweiten Tage wird die Impfstelle und dann auch die nächste Umgebung derselben hart und dunkler gefärbt; und es stellt sich dann in den nächsten Tagen immer deutlicher heraus, dass die so veränderte Haut nekrotisch ist; sie wird schliesslich abgestossen, und es bleibt dann eine flache Ulceration zurück, welche gewöhnlich schnell und dauernd heilt, ohne dass die benachbarten Lymphdrüsen inficirt werden. So wie sich aber die gesunden und die bereits tuberculösen Thiere nach der Impfung mit lebenden Bacillen verschieden von einander verhalten, so verhalten sie sich auch nach der Injection abgetödteter Tuberkelbacillenreinculturen in verschiedener Weise. Gesunden Meerschweinchen können wässerige Aufschwemmungen von durch Hitze oder auf andere Weise abgetödteten Tuberkelbacillenculturen in grosser Menge unter die Haut gespritzt werden, ohne dass etwas anderes als eine locale Eiterung [2]) entsteht. Tuberculöse Meerschweinchen dagegen werden schon durch Injection von sehr geringen Mengen solcher aufgeschwemmten Culturen getödtet (je nach der Dosis in 6 bis 48 Stunden). Eine Dosis, welche eben nicht mehr ausreicht, das Thier zu tödten, kann eine ausgedehnte Nekrose im Bereiche der Injectionsstelle bewirken. Wird die Aufschwemmung noch weiter verdünnt, dann bleiben die Thiere nach der Injection am Leben; werden die Injectionen mit ein- bis zweitägigen Pausen fortgesetzt, so zeigen die Thiere bald eine merkliche Besserung ihres Zustandes. Die (primäre) ulcerirende Impfwunde verkleinert sich und vernarbt schliesslich, was ohne eine derartige Behandlung niemals der Fall ist; die geschwollenen Lymphdrüsen verkleinern sich; der Ernährungszustand wird besser,

---

[1]) In der folgenden Schilderung halte ich mich meist wörtlich an die Koch'schen Veröffentlichungen.

[2]) Die Eiterung wird veranlasst durch eine in den Bacillen selbst vorhandene chemische Substanz, welche sich künstlich nur schwierig aus diesen Zellen extrahiren lässt.

und der Krankheitsprocess kommt, wenn er nicht bereits zu weit vorgeschritten ist und das Thier an Entkräftung zu Grunde geht, zum Stillstand. — Damit war die Grundlage für ein Heilverfahren gegen Tuberculose gegeben.

Koch fand dann weiter, dass ein mit 50procentiger Glycerinlösung hergestellter Auszug aus Tuberkelbacillenculturen in derselben Weise zu heilenden Injectionen gegen Tuberculose benutzt werden kann wie die Aufschwemmung abgetödteter Culturen. Mit diesem Glycerinextract, dem später die Bezeichnung „Tuberculinum Kochii" beigelegt wurde, wird das Koch'sche Heilverfahren ausgeübt. Der in das Glycerinextract übergehende wirksame Körper ist in absolutem Alcohol unlöslich; er ist nach Koch mit Wahrscheinlichkeit ein Derivat von Eiweisskörpern und steht diesen nahe, ist aber kein „Toxalbumin" (cf. p. 36), da er hohe Temperaturen (Siedetemperaturen) erträgt und im Dialysator leicht und schnell durch die Membran geht.

In seiner zweiten Mittheilung[1] hatte Koch bereits betont, dass das neue Mittel nicht etwa die Tuberkelbacillen tödtet, sondern dass es lediglich das tuberculöse Gewebe, und zwar das lebende tuberculöse Gewebe, zum Absterben bringt. Ueber die Art und Weise, wie wir uns die specifische Wirkung des Mittels auf das tuberculöse Gewebe vorzustellen haben, hat Koch[2]) folgende Hypothese aufgestellt: Die Tuberkelbacillen produciren bei ihrem Wachsthum in den lebenden Geweben ebenso wie in den künstlichen Culturen gewisse Stoffe, welche die lebenden Elemente ihrer Umgebung, die Zellen, in verschiedener Weise, und zwar nachtheilig, beeinflussen. Darunter befindet sich ein Stoff, welcher in einer gewissen Concentration lebendes Protoplasma tödtet und so verändert, dass es in den von Weigert als Coagulationsnekrose (cf. oben p. 176) bezeichneten Zustand übergeführt wird. In dem nekrotisch gewordenen Gewebe findet der Bacillus dann so ungünstige Ernährungsbedingungen, dass er nicht weiter zu wachsen vermag, unter Umständen selbst schliesslich abstirbt. Auf grosse Entfernung vermag der einzelne Bacillus Nekrose nicht zu bewirken; denn sobald die Nekrose eine gewisse Ausdehnung erreicht hat, nimmt das Wachsthum des Bacillus und damit die Production der nekrotisirenden Substanz ab, und es tritt so eine Art von gegenseitiger Compensation ein. Würde man nun künstlich in der Umgebung des Bacillus den Gehalt des Gewebes an nekrotisirender Substanz steigern, dann würde sich die Nekrose auf eine grössere Entfernung ausdehnen, und es würden sich

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 46a.
[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 3.

damit die Ernährungsverhältnisse für den Bacillus viel ungünstiger gestalten, als dies gewöhnlich der Fall ist. Theils würden alsdann die in grösserem Umfange nekrotisch gewordenen Gewebe zerfallen, sich ablösen und, wo dies möglich ist, die eingeschlossenen Bacillen mit fortreissen und nach aussen befördern; theils würden die Bacillen soweit in ihrer Vegetation gestört, dass es viel eher zu einem Absterben derselben kommt, als dies unter gewöhnlichen Verhältnissen geschieht. Gerade in dem Hervorrufen solcher Veränderungen besteht wahrscheinlich die Wirkung des Mittels.

Das Glycerinextract enthält von der wirksamen Substanz nach der Schätzung Koch's Bruchtheile eines Procentes. Von dem Glycerinextract kann einem gesunden Meerschweinchen eine Dosis bis zu 2 ccm subcutan beigebracht werden, ohne dass es merklich dadurch beeinflusst wird. Der gesunde erwachsene Mensch wird bereits durch eine Dosis von 0,25 ccm intensiv beeinflusst. Auf Körpergewicht berechnet ist also $^1/_{1500}$ von der Menge, welche beim Meerschweinchen noch keine merkliche Wirkung hervorbringt, für den Menschen sehr stark wirkend. Koch schildert die Wirkung einer Dosis von 0,25 ccm, die er sich selbst am Oberarm subcutan injicirte, folgendermassen: „Drei bis vier Stunden nach der Injection Ziehen in den Gliedern, Mattigkeit, Neigung zum Husten, Athembeschwerden, welche sich schnell steigerten; in der fünften Stunde trat ein ungewöhnlich heftiger Schüttelfrost ein, welcher fast eine Stunde andauerte; zugleich Uebelkeit, Erbrechen, Ansteigen der Körpertemperatur bis zu 39,6°; nach etwa 12 Stunden liessen sämmtliche Beschwerden nach, die Temperatur sank und erreichte bis zum nächsten Tage wieder die normale Höhe; Schwere in den Gliedern und Mattigkeit hielten noch einige Tage an, ebenso lange Zeit blieb die Injectionsstelle ein wenig schmerzhaft und geröthet."

Die untere Grenze der Wirkung des Glycerinextracts liegt für den gesunden Menschen ungefähr bei 0,01 ccm. Die meisten Menschen reagirten in den Koch'schen Versuchen auf diese Dosis nur noch mit leichten Gliederschmerzen und bald vorübergehender Mattigkeit. Bei einigen trat ausserdem noch eine leichte Temperatursteigerung ein bis zu 38° oder wenig darüber hinaus. Ganz anders reagiren Tuberculöse (Erwachsene), wenn ihnen eine derartige Dosis [1]) injicirt wird; bei diesen tritt sowohl eine starke allgemeine wie auch eine örtliche Reaction ein. Die allgemeine Reaction besteht in einem, in der Regel 4 bis 5 Stunden nach der Injection eintretenden, mit Schüttelfrost beginnenden, 12 bis

---

[1]) Bei Phthisikern muss man mit viel geringeren Dosen arbeiten; hier sind die Reactionen am allerheftigsten.

15 Stunden dauernden Fieberanfall, welcher mit Gliederschmerzen, Hustenreiz, grosser Mattigkeit, öfters auch mit Uebelkeit und Erbrechen verbunden ist. Die örtliche Reaction kann am besten an solchen Kranken beobachtet werden, deren tuberculöse Affection sichtbar zu Tage liegt, also z. B. bei Lupuskranken. Einige Stunden nach der (an einer entfernten Körperstelle gemachten) Injection fangen die lupösen Stellen an zu schwellen und sich zu röthen. Die Schwellung und Röthung, welche gewöhnlich bereits vor dem Beginne des Frostanfalles eintritt, wird während des Fiebers stärker und kann zur Nekrose des lupösen Gewebes führen, welches dann später abgestossen wird. In ähnlicher Weise tritt eine örtliche Reaction bei allen im Körper vorhandenen Tuberculoseherden, aber nur bei diesen, auf.

Th. Weyl[1]) hat aus Tuberkelbacillenculturen einen höchst giftigen, den Mucinen nahestehenden Körper dargestellt, ein „Toxomucin", von dem er allerdings „zunächst nicht behauptet, dass er sich in den Tuberkelbacillen präformirt findet." Dieser Körper bewirkt bei Mäusen bereits in einer Dosis von 0,000145 bis 0,000195 g locale Nekrose, wenn er subcutan injicirt wird.

6. Der Leprabacillus.

Bei der Lepra (Aussatz) wurden zuerst durch Armauer Hansen[2]) stäbchenförmige Organismen festgestellt. Durch Neisser[3]) wurde diese Entdeckung bestätigt. Die Leprabacillen liegen in den leprösen Neubildungen, und zwar gewöhnlich innerhalb der Gewebszellen („Leprazellen").

Die Leprabacillen sind in ihren Eigenschaften den Tuberkelbacillen ausserordentlich ähnlich und stellen jedenfalls nahe Verwandte derselben dar. Sie erscheinen meist etwas kürzer als die Tuberkelbacillen. Es muss aber darauf hingewiesen werden, dass man nicht selten (in tuberculösem Sputum z. B.) Zusammenlagerungen von Tuberkelbacillen antrifft, die durch die Kürze der einzelnen Exemplare lebhaft an Leprabacillenzusammenlagerungen erinnern.

Die Leprabacillen haben keine Eigenbewegung.

Ueber künstliche Züchtung der Leprabacillen hat namentlich Bordoni-Uffreduzzi[4]) berichtet. Es gelang ihm im Januar 1887 gelegentlich eines Leprasectionsfalles in Turin in zwei mit dem Knochen-

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 7.
[2]) Virch. Arch. Bd. 79. 1880.
[3]) Virch. Arch. Bd. 84. 1881.
[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1887.

mark der leprösen Leiche geimpften Peptonglycerinblutserum-Röhrchen bei Brüttemperatur in sieben Tagen die ersten Entwickelungsspuren eigenthümlicher Colonien zu erhalten, die aus verschieden langen, an den Enden meist keulenförmig angeschwollenen Bacillen bestanden. Die Endkeulen sah Bordoni-Uffreduzzi als vermuthliche Dauerform (Arthrospore) an. Baumgarten ist der Ansicht, dass es sich hier wohl um eine Involutionserscheinung handelt. Die Strichculturen Bordoni-Uffreduzzi's bildeten bandartige, mit zackigen Rändern versehene Colonien. Uebrigens scheint es später nicht wieder geglückt zu sein, die Leprabacillen künstlich zu cultiviren.

Ueber die Frage der Sporenbildung der Leprabacillen lässt sich etwas Bestimmtes noch nicht sagen.

Die Leprabacillen lassen sich, wie in mancher anderen Hinsicht, auch in ihren färberischen Eigenschaften den Tuberkelbacillen vergleichen (cf. oben p. 86). Sie sind aber nicht so schwer färbbar wie die Tuberkelbacillen; sie nehmen zwischen den letzteren und den übrigen Bakterien eine Mittelstellung ein. Ebenso geben sie die Färbung an Entfärbungsmittel etwas leichter ab als Tuberkelbacillen. Hat man Leprabacillen im Trockenpräparat zu färben, so wird man sich mit Vortheil der oben (p. 179) zur Färbung von Tuberkelbacillen-Deckglaspräparaten angegebenen Methoden bedienen. Hat man Schnitte von Leprabacillen zu tingiren, so genügt eine etwa halbstündige Einwirkung einer der Ehrlich'schen Lösungen (p. 81) auf den Schnitt bei gewöhnlicher Temperatur. Die Leprabacillen sind dann intensiv gefärbt. Behufs der Conservirung der Schnitte empfiehlt es sich sehr. dieselben nach der bei Gelegenheit der Tuberkelbacillenfärbung (p. 182) besprochenen Unna'schen Antrocknungsmethode zu behandeln.

Die Leprabacillen färben sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

Als Unterscheidungsmerkmal der Leprabacillen von den Tuberkelbacillen ist von Baumgarten[1]) das verschiedene Verhalten dieser Organismen bei der Behandlung mit einfachen wässerigen Fuchsinlösungen angegeben worden. Die Leprabacillen färben sich hier (wenigstens in einzelnen Exemplaren [cf. oben p. 86]) in kurzer Zeit bei Zimmertemperatur, während sich die Tuberkelbacillen bei dieser Behandlung noch nicht färben.

Melcher und Ortmann[2]) haben über erfolgreiche Uebertragung von Lepra auf Kaninchen berichtet. Die Autoren impften

---

[1]) Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd 1. 1884. p. 368, 369.
[2]) Berliner klin. Wochenschr. 1886. No. 9.

Lepraknotenstückchen in die vordere Augenkammer zweier Thiere. Dieselben gingen 4 resp. 4 1/2 Monat später zu Grunde und zeigten ausser anderen Metastasen eine Knoteneruption im Darme, besonders in der Wand des Coecums, die die Autoren als Lepra deuteten.

Im Uebrigen ist über Thierinfectionen mit Lepra wenig berichtet; und auch die Modi, die bei der Infection des Menschen hauptsächlich in Frage kommen, sowie die ganze Art und Weise des Zustandekommens der leprösen Veränderungen sind noch wenig bekannt.

Ein Photogramm von Leprabacillen bei 1000facher Vergrösserung (Ausstrichpräparat eines leprösen Hautknotens[1]) zeigt Tafel VIII, Fig. 44. Die Bacillen liegen hier an einzelnen Stellen so dicht in Haufen zusammen, dass eine Unterscheidung der einzelnen Bacillen in diesen nicht möglich ist.

7. Bacillen bei Syphilis. Smegmabacillen.

Im Jahre 1885 machte Lustgarten[2]) in Wien eine Aufsehen erregende Mittheilung von Bacillenbefunden in syphilitischen Geweben. Lustgarten war es gelungen, in Schnitten syphilitischen Gewebes mit Hülfe einer specifischen Färbungsmethode Bacillen nachzuweisen, welche, gewöhnlich nur in wenigen Exemplaren, innerhalb von Zellen liegend angetroffen wurden. Die specifische Färbungsmethode beruht darauf, dass die in der Ehrlich'schen Anilinwassergentianaviolettlösung gefärbten und in Alcohol ausgewaschenen Präparate in einer Lösung von Kaliumpermanganat entfärbt werden. Bei dieser Entfärbung bleiben die Lustgarten'schen Bacillen gefärbt. Der sich auf den Präparaten bildende Niederschlag von Manganhyperoxyd wird dann durch Eintauchen der Präparate in eine wässerige Lösung von schwefliger Säure entfernt. Mit derselben Methode konnte Lustgarten auch in syphilitischen Secreten (d. h. in Deckglastrockenpräparaten) ebenso gestaltete Bacillen nachweisen. Die Lustgarten'schen Bacillen ähneln in ihrer Form den Tuberkelbacillen.

Nach dieser Methode gelang es vielen Untersuchern nicht, sich die Lustgarten'schen Bacillen zur Anschauung zu bringen. Dies gelang besser mit einer anderen Methode, die von de Giacomi[3]) für

---

[1]) Das dem Präparate zu Grunde liegende Material verdanke ich Herrn Priv.-Doc. Dr. Lassar.

[2]) Wien. Med. Jahrb. 1885.

[3]) Corresp.-Bl. f. Schweizer Aerzte. 1885. No. 12.

Trockenpräparate angegeben, von A. Gottstein[1]) auch für Schnittpräparate empfohlen wurde. Die de Giacomi'sche Methode beruht darauf, dass die Präparate in Ehrlich'scher Anilinwasserfuchsinlösung gefärbt und dann mit Eisenchloridlösung nachbehandelt werden. Aber auch mit dieser Methode ist es nicht gelungen, die Lustgarten'schen Bacillen in syphilitischen Geweben constant nachzuweisen.

Dagegen fanden Alvarez und Tavel[2]) sowie Matterstock[3]) im normalen Smegma praeputiale, ferner zwischen den grossen und kleinen Labien und am Anus gesunder Menschen bestimmte Bacillenformen („Smegmabacillen"), die den Lustgarten'schen Bacillen im Aussehen gleichen und auch dieselben färberischen Eigenthümlichkeiten darbieten.[4]) Die Bedeutung der Lustgarten'schen Bacillen, deren künstliche Züchtung übrigens nicht gelungen ist, ist dadurch sehr in Frage gestellt worden.

Für die specifische Bedeutung der Lustgarten'schen Bacillen ist übrigens die gewichtige Autorität von C. Weigert[5]) in die Schranken getreten.

8. Der Rotzbacillus.

Als Ursache der Rotzkrankheit (Malleus), einer speciell bei Pferden und verwandten Thieren in Epizootien auftretenden Infectionskrankheit, die aber bekanntlich auch auf den Menschen übertragbar ist, wurde 1882 durch Loeffler und Schütz[6]) ein specifischer Bacillus, der „Rotzbacillus", ermittelt. Loeffler hat dann seine umfangreichen Studien über die Rotzkrankheit in einer ausführlichen Arbeit[7]) niedergelegt.

Der Rotzbacillus ist ein sehr kleines Stäbchen, ohne Eigenbewegung. Der Bacillus lässt sich auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden, bei Temperaturen zwischen 25 und 40° C. und bei Sauerstoffanwesenheit, künstlich züchten. Auf der Agaroberfläche erscheinen die Culturen als feuchtglänzende weissliche Beläge, auf Blutserum als helldurchscheinende, zerstreute, tropfenförmige Auf-

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1885. No. 16.

[2]) Arch. de physiol. norm. et pathol. 1885. No. 7.

[3]) Verh. d. Würzb. phys. med. Gesellsch. Juni 1885.

[4]) Doutrelepont hat eine besondere Färbungsmethode angegeben, die zwar die bei Syphilis vorkommenden Bacillen, aber nicht die Smegmabacillen gefärbt zur Anschauung bringen soll.

[5]) Deutsche med. Wochenschr. 1885. p. 885.

[6]) Deutsche med. Wochenschr. 1882. No. 52.

[7]) Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. I. 1886.

lagerungen, die später zusammenfliessen. Das Blutserum wird nicht verflüssigt.

Sehr characteristisch ist das Wachsthum der Rotzbacillen auf Kartoffeln. Es bildet sich auf der Oberfläche der bei Brüttemperatur gehaltenen Kartoffel im Verlauf von etwa 2 Tagen zunächst ein gelblicher honigähnlicher Belag, der dann allmählich dunkler, braunroth bis dunkelroth wird.

Ob der Rotzbacillus Sporen bildet oder nicht, wurde von Loeffler unentschieden gelassen und ist auch heute noch nicht mit Sicherheit entschieden.[1]) Loeffler beobachtete eingetrocknete Rotzbacillen, die drei Monate ihre Uebertragbarkeit und ihre Virulenz behielten; diese Thatsache ist kaum anders als durch die Anwesenheit von Dauersporen zu erklären. Baumgarten und Rosenthal[2]) sind dann auf Grund gelungener „Sporenfärbung“ bei den Rotzbacillen (cf. oben p. 164) für die Existenz der Sporenbildung eingetreten. Das einzig und allein mit Sicherheit in dieser Frage entscheidende Kriterium, nämlich der Nachweis der Keimfähigkeit (cf. oben p. 62, 63), ist jedoch für die als „Sporen“ gedeuteten Gebilde noch nicht geliefert worden.

Werden die künstlichen Culturen der Rotzbacillen auf Pferde oder auf andere empfängliche Thiere verimpft, so erzeugen sie das typische Bild der Rotzkrankheit. Empfänglich sind von Hausthieren, ausser Pferden und Eseln, Ziegen und Katzen, weniger empfänglich sind Schafe und Hunde[3]), Schweine noch weniger; Rinder erscheinen immun. Aus der Gruppe der Nagethiere sind hervorragend empfänglich die Feldmaus, die Waldmaus, die Wühlmaus; etwas weniger empfänglich sind Meerschweinchen, viel weniger Kaninchen. Ganz unempfänglich sind Haus- und weisse Mäuse[4]) sowie Ratten.

---

[1]) Flügge (Grundriss d. Hyg. 1889. p. 54) spricht sich mit Sicherheit gegen die Bildung „echter Sporen“ aus. Auch Boer, welcher im hygienischen Institute zu Berlin arbeitete, hat kürzlich (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890. p. 481) angegeben, dass er in zahlreichen Versuchen die Sporenbildung bei den Rotzbacillen stets vermisst hat.

[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 13.

[3]) Junge Hunde sind sehr empfänglich (Flügge, Grundriss d. Hygiene. 1889. p. 54).

[4]) Leo (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889) fand, dass die weissen Mäuse ihre natürliche Immunität gegen Rotz verlieren, wenn sie mit Phloridzin gefüttert werden. Die Thiere scheiden nach der Phloridzindarreichung (wie der Mensch und der Hund) Zucker aus, und diese künstlich diabetisch gemachten Thiere sind für die Rotzinfection empfänglich.

Bei fortgesetzter Züchtung auf künstlichen Nährböden verliert der Rotzbacillus seine Virulenz bald.

Die Infection geschieht unter natürlichen Umständen wohl ausschliesslich von kleinen Verletzungen der Haut, vielleicht auch der angrenzenden Schleimhäute, aus. Es bilden sich zunächst locale Schwellungen, die gern abscediren, und denen sich Schwellungen der Lymphgefässe und Lymphdrüsen mit eventueller Abscedirung anschliessen; dann kommt es zu allgemeiner Verbreitung der Krankheit in den Körper, zur Bildung von metastatischen, an die Tuberkel erinnernden submiliaren Knötchen in den Organen. Die rotzig veränderten Gewebstheile haben grosse Neigung zur Nekrose, zum Zerfall.

Bei Pferden ist die Prädilectionsstelle für die Rotzgeschwüre die Nasenschleimhaut. Ob hier in jedem Falle auch die primäre Infection stattfindet, oder ob die Affection der Nasenschleimhaut häufig eine metastatische ist, ist noch unentschieden.

Meerschweinchen gehen nach der künstlichen subcutanen Infection im Verlaufe mehrerer Wochen, Feldmäuse schon nach 3 bis 4 Tagen zu Grunde.

Die Rotzbacillen finden sich in den specifischen Gewebsneubildungen, namentlich in den Centren der Knötchen; sie sind in Gewebsschnitten nicht leicht darstellbar. Am besten gelingt die Darstellung noch an ganz frischem Material, während man bei älterem Meterial oft vergeblich versucht, die Bacillen durch die Färbung sichtbar zu machen. Besonders empfohlen hat Loeffler zur Färbung seine alkalische Methylenblaulösung (cf. oben p. 70). Im Uebrigen muss man die Schnitte nach der oben (p. 73) angeführten Weigert'schen Methode behandeln und eine Kernfärbung in den Kauf nehmen. Eine Methode der isolirten Färbung der Rotzbacillen im Gewebe ist bisher nicht aufgefunden. Nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.) färben sich die Bacillen nicht.

Taf. IX, Fig. 49, zeigt einen Schnitt durch die Lunge der inficirten Feldmaus. Man sieht hier am Schnittrande, genau in der Mitte des Bildes, eine Zelle, welche eine Anzahl Rotzbacillen enthält.

9. Der Typhusbacillus.

Die bei dem menschlichen Abdominaltyphus constant vorkommenden Bacillen, die „Typhusbacillen“, wurden zuerst von Eberth [1]) gesehen. Die fast zur selben Zeit von Klebs bei Abdominaltyphus in den nekrotischen Darmpartien aufgefundenen Bacillen hält

[1]) Virch. Arch. Bd. 81, 1880 und Bd. 83, 1881.

Koch[1]) nach der Klebs'schen Beschreibung ihres Aussehens nicht für Typhusbacillen, sondern für andersartige Bacillen, die nur eine secundäre Bedeutung hatten. Koch[2]) hat die Typhusbacillen etwa zu derselben Zeit wie Eberth gesehen und zuerst photographisch dargestellt. Gaffky[3]) hat dann den Typhusbacillus einem eingehenden Studium unterworfen und seine specifische Bedeutung für die Entstehung des Abdominaltyphus im höchsten Grade wahrscheinlich gemacht.

Der Typhusbacillus ist ein kurzes, plumpes Stäbchen mit abgerundeten Enden, welches im Gewebe gewöhnlich einzeln liegt, in künstlichen Culturen aber häufig zu langen Fadenverbänden auswächst. Auf Taf. VIII, Fig. 45, ist ein Klatschpräparat von einer Gelatineplattencultur bei 1000facher Vergrösserung dargestellt; hier sieht man sowohl einzeln liegende, wie in längeren Verbänden angeordnete Bacillen. Der Typhusbacillus hat lebhafte Eigenbewegung, welche durch Geisselfäden bewirkt wird. Die letzteren sind dem einzelnen Bacillus und zwar den Seitenwandungen desselben, in grosser Anzahl angeheftet. Die mikroskopische Darstellung dieser Gebilde ist oben (p. 66, Anm. 1) besprochen.

Der Typhusbacillus gedeiht am besten bei Sauerstoffanwesenheit Er wächst auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden, am besten bei Brüttemperatur; er kommt aber auch bei Zimmertemperatur fort.

Die Gelatine wird niemals verflüssigt. Die Colonien haben auf der Gelatineplatte sowohl wie in der Stichcultur die Tendenz, sich hauptsächlich oberflächlich auszubreiten. Es bildet sich ein oberflächlich weiter kriechender, die Gelatine mehr und mehr überziehender, unregelmässig begrenzter, grauweisser irisirender Belag. Taf. VIII, Fig. 48, zeigt eine Oberflächen-Strichcultur auf Gelatine. Das Wachsthum ist von dem dünnen, in dem Photogramm deutlich zu sehenden, in der Mitte der Wucherung liegenden Impfstriche ausgegangen. Auf Agar bildet sich ein grauweisser, feuchter Ueberzug.

Characteristisch ist das Wachsthum des Typhusbacillus auf Kartoffeln. Die inficirten Kartoffelflächen lassen „im Laufe der folgenden Tage für das blosse Auge nur sehr geringe Veränderungen erkennen. Die besäten Flächen scheinen wohl ein etwas gleichmässigeres und feuchteres Aussehen anzunehmen, doch sieht man makroskopisch von einem Wachsthum nichts. Versucht man aber — etwa nach 48 Stunden — mit der Platinnadel von der Oberfläche

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 45.
[2]) Ebenda, Tafel IX und X.
[3]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884.

eine geringe Menge zur mikroskopischen Untersuchung zu entnehmen, so erhält man den Eindruck, als ob die ganze Fläche in eine zusammenhängende resistentere Haut verwandelt wäre, ohne dass sich von Eintrocknung auch nur eine Spur wahrnehmen liesse. Von welcher Stelle der Oberfläche man aber auch ein minimales Kartoffelstückchen entnehmen mag, überall, auch an den nicht besäten Partien, findet man bei der mikroskopischen Untersuchung in ganz überraschenden Mengen die verimpften Bacillen, meist von der gewöhnlichen Länge, zum Theil aber auch in Form längerer Scheinfäden. Die ganze Oberfläche scheint fast nur aus den Bacillen zu bestehen."[1]) Die Erscheinungsweise der Kartoffelcultur der Typhusbacillen lässt die letzteren von anderen, im Uebrigen ähnlichen Bakterienarten unterscheiden. Und es ist andererseits, will man bestimmte, im Darminhalt, im Boden, im Wasser aufgefundene Bakterien als Typhusbacillen ansprechen, durchaus nothwendig, die Charactere der Kartoffelcultur der zu beurtheilenden Bakterien festzustellen. Allerdings kommen von dem genannten typischen Aussehen der Kartoffelcultur auch Abweichungen vor. E. Fraenkel und Simmonds[2]) haben zuerst darauf aufmerksam gemacht, dass die Typhusbacillen auf manchen Kartoffelsorten graue, in ihren Grenzen deutlich erkennbare, schmierige Beläge bilden. Zum Zustandekommen der typischen, von Gaffky beschriebenen Erscheinungsweise der Kartoffelcultur scheint die normale, leicht saure Reaction der Kartoffel unerlässlich zu sein.

Nach einem absolut sicheren Kennzeichen des Typhusbacillus, welches gestattet, denselben unter allen Umständen als solchen zu erkennen, wird immer noch gesucht.[3]) Ein solches sicheres und constantes Merkmal des Typhusbacillus ist aber ausserordentlich erwünscht angesichts des Umstandes, dass in der Natur (im Inhalt unseres Darmes, im Boden, im Wasser etc.) eine grosse Reihe von Bakterienarten weit verbreitet vorkommen, die morphologisch sowohl wie in ihrem Culturverhalten dem Typhusbacillus höchst ähnlich sind.

Diagnostisch verwerthbar ist nach den Ermittelungen von Kitasato[4]) neben der Kartoffelcultur das Verhalten der Bouilloncultur beim Zusatz von Kaliumnitrit und Schwefelsäure (d. h. beim Zusatz von salpetriger Säure). Während nämlich bei den dem Typhusbacillus ähnlichen Bakterienarten nach diesem Zusatze eine Rothfärbung eintritt

[1]) Wörtlich aus der Arbeit Gaffky's, l. c. p. 388, 389.
[2]) Zeitschr. für Hygiene. Bd. 2. 1887.
[3]) cf. R. Koch. 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandlungen. Bd. 1. p. 38.
[4]) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 7. 1889.

(Indolreaction), bleibt diese Rothfärbung in den Typhusbacillusculturen aus. Die Typhusbacillen produciren, zum Unterschied von sonst ähnlichen Arten, kein Indol.

Gaffky war durch seine Untersuchungen zu dem Schlusse geführt worden, dass die Typhusbacillen (endständige) Sporen bilden, die sich bei Brüttemperatur in den Culturen innerhalb 3 bis 4 Tagen entwickeln. Es fehlen diesen „Sporen" jedoch wesentliche Charactere, welche man an endogenen Sporen nicht zu vermissen gewohnt ist, vor Allem die Resistenz gegen die Einwirkung höherer Temperaturen. Besonders durch Buchner[1]) ist später auf Grund experimenteller Untersuchungen die Sporenbildung bei den Typhusbacillen lebhaft bestritten worden. Es unterliegt jetzt keinem Zweifel mehr, dass Sporenbildung bei dem Typhusbacillus nicht existirt.

Aus Culturen der Typhusbacillen auf Rindfleischbrei hat Brieger[2]) ein giftiges Alkaloid, ein „Toxin", isolirt, welches die Zusammensetzung $C_7\ H_{17}\ NO_2$ hat.

Der Typhusbacillus ist auf Thiere nicht übertragbar. Von mehreren Seiten wurden im Jahre 1886 angeblich gelungene Thierversuche publicirt; es hat sich aber feststellen lassen, dass es sich in den Fällen mit anscheinend positivem Ergebnisse um Intoxicationen mit den giftigen Ptomaïnen der Typhusbacillenculturen gehandelt hat, und dass die Typhusbacillen im Körper der Versuchsthiere sich nicht zu vermehren vermögen.

Bei der Infection des Menschen bildet der Darm stets die Eingangspforte. Man findet in der Typhusleiche die Bacillen innerhalb der Darmwand, in den Mesenterialdrüsen, ferner besonders in Milz, Leber und Nieren. In den letztgenannten Organen treten die Bacillen stets in grösseren oder kleineren Anhäufungen, Herden, auf, und zwar liegen sie innerhalb der Blutgefässe. Auf Taf. VIII, Fig. 47, ist ein Herd aus einer Typhusleber bei 200facher Vergrösserung dargestellt; Fig. 46 zeigt einen Theil dieses Herdes bei 500facher Vergrösserung.

Beim lebenden Typhuskranken fand zuerst A. Pfeiffer[3]) die Typhusbacillen im Stuhl. Dieser Befund ist jedoch kein constanter.[4]) Dann wies Neuhauss[5]) den Typhusbacillus im peripherischen

---

[1]) Centralbl. f. Bakter. Bd. 4. 1888. No. 12—13.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 18. p. 283.

[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 29.

[4]) Nach Karlinski (cf. Centr. f. Bakt. Bd. 8. p. 83) ist der Typhusbacillus vor dem 9. Krankheitstage nie im Stuhl zu finden.

[5]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 6 u. 24.

Blute (im Blute der Roseolen) des Typhuskranken nach. Andere Autoren haben ihn dann auch im Fingerblute gefunden. Jedoch sind alle diese Befunde nur vereinzelt; die Untersuchungen sind oft mit negativem Ergebniss wiederholt worden. In einer Anzahl von Typhusfällen findet man den Typhusbacillus auch im Urin.

Die Typhusbacillen sind in einer ganzen Reihe von Fällen der Praxis im Trinkwasser, besonders in verunreinigtem Brunnenwasser, nachgewiesen worden; und es ist sehr wahrscheinlich, dass die natürlichen Infectionen des Menschen mit Abdominaltyphus in der Mehrzahl der Fälle durch den Genuss von bacillenhaltigem Trinkwasser vermittelt werden.

Die Typhusbacillen färben sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.). Sie nehmen ferner die Färbung mit Anilinfarben überhaupt etwas schwieriger an als andere Bakterienarten. Färbt man ein Trockenpräparat, welches man sich aus einer frischen Typhusbacillencultur hergestellt hat, mit einer gewöhnlichen wässerigen Farblösung in der gewöhnlichen Weise, so findet man viele Exemplare nicht intensiv, sondern nur blass gefärbt. Es empfiehlt sich deshalb, die Färbung unter leichter Erwärmung (cf. p. 64) zu bewirken.

10. Der Bacillus der Mäusesepticaemie und der Bacillus des Schweinerothlaufs.

Die Mäusesepticaemie ist eine experimentelle Infectionskrankheit, welche R. Koch bei seinen „Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten“ [1]) entdeckte. Haus- und weisse Mäuse, denen faulendes Blut, faulendes Fleischinfus subcutan eingebracht wurde, gingen an einer Septicaemie zu Grunde. Die inneren Organe zeigten sich makroskopisch im Allgemeinen unverändert, nur bestand beträchtliche Milzschwellung. Die Krankheit liess sich von einer Maus auf die andere durch cutane Impfung mit den geringsten Mengen von Blut der gestorbenen Thiere übertragen.

Ueberall im Blut fand Koch sehr kleine Stäbchen, 0,8—1,0 μ lang, 0,1—0,2 μ dick. Dieselben liegen fast stets einzeln, sind häufig in Zellen eingeschlossen.

Ob die Stäbchen Eigenbewegung haben, erscheint noch zweifelhaft.

Die Bacillen der Mäusesepticaemie zeigen ein ganz characteristisches Wachsthum in der Nährgelatine. Auf Platten

[1]) Leipzig. 1878. p. 40—45.

erscheinen im Verlaufe einiger Tage hellgraue, durchscheinende, Nebel-, Schleier-, Wolkenartige runde Flecken. In der Gelatinestichcultur beobachtet man um den Impfstich herum die Ausbildung horizontal gestellter, schichtweise über einander liegender wolkiger Trübungen (siehe Taf. IX, Fig. 52). Die Gelatine wird ganz langsam verflüssigt, und dementsprechend kommen sowohl auf den Gelatineplatten wie in den Stichculturen Verdunstungserscheinungen des Nährbodens, dellenartige resp. tulpenförmige Einziehungen der Gelatine, zu Stande.

Auf der Agaroberfläche bildet der Bacillus äusserst zarte, kaum sichtbare, in feinsten Tröpfchen angeordnete Ueberzüge.

Auf Kartoffeln wächst der Bacillus nicht.

Im hängenden Tropfen bei Brüttemperatur wächst der Bacillus nicht, wie man das sonst bei Bacillen häufig sieht, zu langen Fäden aus, sondern vermehrt sich zu dichten Haufen. In einigen Fällen hat Koch Sporenbildung beobachtet.

Haus- und weisse Mäuse sind für die Infection sehr empfänglich; sie sterben 40—60—80 Stunden nach der Impfung. Man findet sie, was für die Krankheit ganz specifisch ist, nach dem Tode in sitzender Stellung mit stark gekrümmtem Rücken. Auf Taf. IX, Fig. 53, ist eine an Mäusesepticaemie gestorbene weisse Maus in der characteristischen Todesstellung dargestellt. Die daneben stehende Fig. 54 giebt zum Vergleiche die Stellung, in welcher man Milzbrandmäuse nach dem Tode findet, wieder. Feldmäuse sind vollständig immun, ebenso Hühner und Meerschweinchen.

Der Mäusesepticaemiebacillus färbt sich leicht mit wässerigen Farblösungen; ebenso färbt er sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

Auf Taf. IX, Fig. 51, ist ein Milzschnitt von einer an Mäusesepticaemie verendeten Maus bei 500facher Vergrösserung dargestellt. Meist liegen hier die Bacillen in so dichten Haufen zusammen, dass sie nicht von einander unterschieden werden können. Eine Anzahl Bacillen aber sind sehr schön isolirt zu sehen.

Dem Mäusesepticaemiebacillus in seinem gesammten Verhalten höchst ähnlich, vielleicht mit demselben identisch, ist der Bacillus des Schweinerothlaufs.

Der Schweinerothlauf (rouget des porcs) ist eine, besonders unter den edleren Schweinerassen in den ersten Lebensjahren epizootisch auftretende, unter dem Bilde einer Septicaemie verlaufende schwere Infectionskrankheit. Den veranlassenden Bacillus fand zuerst

Loeffler[1]) (1882) in dem Blute und den Organen der Thiere. Er züchtete bereits 1882 diesen Bacillus rein und erkannte seine Pathogenität für Mäuse und Kaninchen. Er fand damals auch, dass Kaninchen durch einmaliges Ueberstehen der Infection immun werden gegen eine neue Infection. Schweine zu inficiren gelang Loeffler nicht; wie sich nämlich später herausgestellt hat, sind die gemeinen Landrassen so gut wie unempfänglich für die Krankheit. Namentlich durch Schütz[2]) ist dann der Schweinerothlauf genauer studirt und seine Aetiologie sicher festgestellt worden.

Schütz hält die Identität der Erreger der Koch'schen Mäusesepticaemie und des Schweinerothlaufs für wahrscheinlich. Durch Kitt[3]) ist festgestellt, dass auch insofern eine Uebereinstimmung besteht, als der Rothlaufbacillus, wie der Mäusesepticaemiebacillus, zwar für Haus- und weisse Mäuse, nicht aber für Feldmäuse pathogen ist.

Refractär sind gegen Schweinerothlauf Rinder, Schafe, Pferde, Maulesel, Esel, Hunde, Katzen, Meerschweinchen, Feldmäuse, Waldmäuse, Hühner, Gänse, Enten. Auch auf den Menschen ist eine Uebertragung nicht beobachtet.

Die Virulenz des Bacillus wird bei der wiederholten Verimpfung von Kaninchen zu Kaninchen abgeschwächt (Pasteur, Kitt). Durch Impfung mit dem abgeschwächten Bacillus lassen sich, wie Pasteur gefunden hat, Schweine immun machen gegen die Infection mit dem virulenten Bacillus (cf. oben p. 154).

Die Infection der Schweine mit Schweinerothlauf scheint unter natürlichen Verhältnissen durch die Aufnahme der sehr virulenten Excremente erkrankter Schweine mit der Nahrung in den Darmkanal zu erfolgen.

11. Der Diphtheriebacillus.

Die bei der menschlichen Diphtherie vorkommenden Bakterien wurden zuerst von Loeffler[4]) einer eingehenden Untersuchung mit Hülfe der modernen bakteriologischen Methoden unterworfen. Loeffler constatirte das ziemlich constante Vorkommen einer bestimmten, künstlich züchtbaren Bacillenart, mit der es zwar nicht gelang bei Thieren echte Diphtherie hervorzurufen, der aber doch Thieren

[1]) Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1886.
[2]) Ebenda.
[3]) cf. Skizze des Autors im Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 23.
[4]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884.

gegenüber eine erhebliche Giftigkeit zukam. Freilich fand Loeffler dieselbe Bacillenart auch einmal in der Mundhöhle eines gesunden Kindes; und er hat sich deshalb sehr reservirt bezüglich der etwaigen Specifität der gefundenen Bacillen für die Diphtherie ausgesprochen. Neuere Untersuchungen von Loeffler[1]) sowie von Roux und Yersin[2]), von Zarniko[3]), von Escherich[4]), von Brieger und C. Fraenkel[5]) haben nun gezeigt, dass der Loeffler'sche „Diphtheriebacillus" allerdings ein ganz constantes Vorkommniss bei der Diphtherie ist. Ferner sind eine Reihe von Thatsachen bezüglich des Verhaltens dieses Bacillus gegenüber Versuchsthieren ermittelt worden, die kaum noch einen Zweifel lassen, dass wir in dem Loeffler'schen Bacillus den Erreger der menschlichen Diphtherie vor uns haben.

Der Diphtheriebacillus ist ein Stäbchen, welches etwa die Länge des Tuberkelbacillus besitzt, aber etwa doppelt so breit wie dieser ist. Das morphologische Verhalten wechselt aber. Häufig finden sich bizarre Formen mit kolbig verdickten, knotig aufgetriebenen Enden (Involutionserscheinungen).

Der Bacillus findet sich ausschliesslich in den diphtheritischen Pseudomembranen[6]), sonst nirgends im Körper des Erkrankten. Die schweren Allgemeinsymptome der Diphtherie beruhen auf Intoxication des Körpers durch die am Orte der Infection von dem Bacillus gebildeten höchst giftigen Stoffwechselproducte. Auf Taf. IX, Fig. 50, sieht man einen Durchschnitt durch eine diphtheritische Pseudomembran mit Stäbchenhaufen.

Der Bacillus ist unbeweglich. Er wächst bei Temperaturen zwischen 20 und 42° C. Er wächst sowohl in Gelatine wie auf anderen Nährböden. Die Nährböden müssen stets leicht alkalisch sein. Besonders eignet sich das Loeffler'sche Blutserum (3 Theile Rinder- und Hammelserum vermischt mit einem Theile einer Rinderbouillon, der 1 % Pepton, ½ % Kochsalz und 1 % Traubenzucker zugesetzt ist), ferner das Glycerin-Agar (cf. oben p. 102) zur Culti-

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 4.

[2]) Annales de l'Inst. Pasteur. 1888. No. 12; 1889. No. 6; 1890. No. 7.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 6—8.

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 1.

[5]) Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 11—12.

[6]) Auf dem 10. internat. med. Congress hat Loeffler (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. p. 664) einen Diphtheriefall mitgetheilt, in welchem er aus dem Rachen des Erkrankten bis zum 24. Tage nach dem Beginn der Erkrankung (fieberlos war der Kranke seit dem 5. Krankheitstage) infectionstüchtige Diphtheriebacillen zu züchten vermochte.

virung. Zum Zwecke der Isolirung des Bacillus aus dem erkrankten Körper streicht man ein sehr kleines, an der Platinöse haftendes Stückchen der Pseudomembran hinter einander auf der Oberfläche des Nährbodens von 6—8 Blutserum- oder Glycerinagar-Röhrchen (schräg erstarrt; cf. oben p. 103) aus. Die Röhrchen werden dann in den Brütschrank gestellt. In den letzten Röhrchen kommen isolirte Colonien zur Entwickelung, die dann weiter verimpft werden.

Auf dem Loeffler'schen Serum bilden die Bacillen bei 37° C. in 2 Tagen einen dicken, weisslichen, glänzenden Ueberzug.

Auf Agar ist das Wachsthum zunächst kein besonders ausgiebiges; bei weiteren Umzüchtungen wird das Wachsthum ein erheblich besseres, zugleich stellt sich eine Abnahme der Virulenz ein.

Auf der Gelatineplatte bildet der Diphtheriebacillus (bei etwa 22—24° C.) rundliche, die Gelatine nicht verflüssigende Colonien, welche dauernd klein bleiben. In der Stichcultur bilden sich kleine, weisse, kugelförmige Colonien längs des Impfstiches.

Auf der Kartoffel wächst der Bacillus nur, wenn die Oberfläche derselben alkalisch gemacht wird. Die Milch ist ein günstiger Nährboden für den Bacillus.

Sporenbildung scheint nicht zu existiren.

Im getrockneten Zustande (in Stückchen von Pseudomembranen) bleibt der Diphtheriebacillus 3—4 Monate lang entwickelungsfähig.

Virulente Culturen der Diphtheriebacillen haben für eine grosse Reihe von Thieren eine sehr starke Giftigkeit. Meerschweinchen, welche ganz besonders empfänglich sind, sterben nach subcutaner Einverleibung der kleinsten Mengen innerhalb 24 Stunden. Ebenso sind Kaninchen, Tauben, Hühner empfänglich, wenn auch weniger. Junge Hunde verhalten sich sehr empfänglich. Verimpft man virulente Cultur auf die Vagina von Meerschweinchen, so entsteht nekrotisirende Schleimhautentzündung. Auf der eröffneten Trachea von Meerschweinchen und Kaninchen entwickelt sich nach der Impfung eine echte Diphtherie (Brieger und C. Fraenkel). Sehr wichtig ist die ganz sicher constatirte Thatsache (Roux und Yersin, Brieger und C. Fraenkel), dass sich bei längerer Krankheitsdauer bei den Versuchsthieren häufig echte diphtheritische Lähmungen entwickeln.

Mäuse und Ratten verhalten sich refractär.

Aus Diphtheriebacillenculturen stellten Brieger und C. Fraenkel einen überaus giftigen Eiweisskörper (kein Alkaloid) dar, welcher in die Gruppe der von diesen Forschern entdeckten „Toxalbumine“ (cf. oben p. 36) gehört.

Der Diphtheriebacillus färbt sich mit wässerigen Farbstofflösungen, besonders gut mit der Loeffler'schen Methylenblaulösung (p. 70); er färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

In der Mund- und Rachenhöhle findet sich nicht ganz selten ein dem Loeffler'schen Diphtheriebacillus morphologisch und in der Cultur sehr ähnlicher, aber nicht virulenter Bacillus, der „Pseudodiphtheriebacillus". Derselbe wurde zuerst von Loeffler[1]) gesehen, dann auch von v. Hofmann[2]) studirt. Dieser Pseudodiphtheriebacillus lässt sich dadurch von dem echten Diphtheriebacillus unterscheiden, dass er, in Bouillon gezüchtet, die Reaction derselben unverändert lässt, während der echte Diphtheriebacillus die ursprünglich leicht alkalische Bouillon sauer macht.

12. Der Bacillus der Septicaemia haemorrhagica.

Unter der Bezeichnung „Septicaemia haemorrhagica" hat Hueppe[3]) eine Reihe von (nicht auf den Menschen übertragbaren) Thierkrankheiten zusammengefasst, welche durch specifische, entweder identische oder wenigstens ausserordentlich nahe verwandte Erreger veranlasst werden.

Es gehören hierher die Hühnercholera, die Kaninchensepticaemie, die Schweineseuche, die Rinder- und Wildseuche und vielleicht noch einige andere Thierseuchen.

Die Hühnercholera (Geflügelcholera, choléra des poules) ist eine unter dem Geflügel des Hofes oft epizootisch auftretende, mit Diarrhöen einhergehende, bei Hühnern in 1 bis 2 Tagen tödtlich endende Infectionskrankheit.

Durch Perroncito, dann besonders durch Pasteur, wurden in dem Blut und den Organen der Thiere sowie in dem Darminhalt derselben constant vorkommende, eigenthümlich gestaltete Bakterien nachgewiesen, die durch Pasteur (1880) reingezüchtet wurden, und deren specifische pathogene Bedeutung durch erfolgreiche Uebertragung auf gesunde Thiere durch Pasteur festgestellt wurde.

Die Hühnercholerabacillen sind kurze, plumpe Stäbchen mit etwas abgerundeten Enden, die häufig einzeln, aber auch zu

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 4.

[2]) Tagebl. d. 60. Vers. deutsch. Naturf. u. Aerzte. Wiesbaden. 1887. p. 119—120.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 44—46.

mehreren verbunden angetroffen werden und sich bei der Färbung mit Anilinfarbstoffen dadurch vor anderen ähnlichen Stäbchen auszeichnen, dass sie sich nur an den Endpolen färben, während ihre Mitte ungefärbt bleibt.

Die Hühnercholerabacillen sind unbeweglich.

Sie wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden bei Zimmertemperatur sowohl wie bei Brüttemperatur; auf Kartoffeln findet nur bei Brüttemperatur Wachsthum statt, und zwar auch da nur mässiges.

In Gelatinestichculturen kommt die Entwickelung sowohl im Verlaufe des Impfstiches wie auch auf der Oberfläche zu Stande; auf der Oberfläche bildet sich ein zarter, weissgrauer Belag. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Auf Agar und Blutserum bilden sich glänzende, weissliche Beläge.

Sporenbildung existirt bei den Hühnercholerabacillen nicht.

Unter natürlichen Verhältnissen wird die Infection der Hühner, wie sicher nachgewiesen ist, dadurch vermittelt, dass die Excremente der kranken Thiere, welche sehr reich an den Bacillen sind, von gesunden Thieren mit der Nahrung in den Darmkanal aufgenommen werden.

Künstlich lässt sich die Infection sowohl durch Verfütterung der Culturen, wie durch cutane oder subcutane Einverleibung übertragen. Die Hühner zeigen ausser der Septicaemie hämorrhagische Enteritis; der Darminhalt ist reich an den specifischen Bakterien. Neben Hühnern sind Gänse, Tauben, Sperlinge, Mäuse und Kaninchen empfänglich. Meerschweinchen erscheinen fast unempfänglich. Auf Taf. XI, Fig. 61, ist ein Schnitt durch die Leber der inficirten Taube dargestellt.

Bekanntlich ist die Hühnercholera diejenige Krankheit, bei der zuerst eine Abschwächung der Virulenz pathogener Bakterien (durch Pasteur 1880; cf. oben p. 152) festgestellt wurde. Pasteur fand, dass künstliche Culturen der Hühnercholerabakterien bei einfachem längeren Stehen an der Luft ihre Fähigkeit verloren hatten, Hühner tödtlich zu inficiren. Die geimpften Thiere erkrankten nur örtlich und zeigten sich nachher immun gegen Infection mit virulenten Culturen.

Der Hühnercholerabacillus färbt sich mit wässerigen Farbstofflösungen; er färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

Wie wir schon sagten, giebt es eine Reihe weiterer infectiöser Thierkrankheiten, die ihre Entstehung Erregern verdanken, die den

Hühnercholerabakterien sehr ähnlich, vielleicht mit denselben identisch sind. Wir wollen die hauptsächlichsten dieser Krankheiten kurz characterisiren:

1) Die Kaninchensepticaemie. Dieselbe ist eine experimentelle Krankheit, welche Gaffky[1]) zuerst durch subcutane Injection von Pankewasser (die Panke ist ein in Berlin mündendes Nebenflüsschen der Spree) in den Kaninchenkörper erhielt. Die Kaninchen gehen innerhalb 16—20 Stunden nach der Impfung zu Grunde und zeigen überall in Blut und den Organen Organismen, welche in ihrem gesammten Verhalten den Hühnercholerabakterien gleichen.

2) Die Schweineseuche. Dieselbe ist eine früher mit Schweinerothlauf (s. oben p. 200) zusammengeworfene Krankheit, welche jedoch von Loeffler[2]) als selbständige Krankheit erkannt wurde. Loeffler fand 1882 in der Halshaut und den Organen eines angeblich an Rothlauf verendeten Schweines sehr kleine ovoide Bakterien, welche mit den Hühnercholerabakterien die grösste Aehnlichkeit hatten. Loeffler cultivirte die Schweineseuchebakterien auch bereits rein. Schütz hat dann später die Schweineseuche eingehend studirt und mit den reingezüchteten Bakterien Schweine erfolgreich inficirt.

Ein Unterschied zwischen den Hühnercholerabakterien und den Erregern der Schweineseuche besteht insofern, als die letzteren für Hühner und Tauben fast völlig indifferent, für Meerschweinchen aber sehr virulent sind. Hühnercholerabakterien verhalten sich gerade entgegengesetzt. Im Uebrigen aber sind irgendwie durchgreifende Unterschiede nicht zu verzeichnen.

3) Die Rinder- und Wildseuche. Dieselbe ist eine früher häufig mit Milzbrand verwechselte, dann von Bollinger als selbständige Krankheit erkannte, epizootisch auftretende Infectionskrankheit, welche Roth- und Schwarzwild, aber auch Pferde und Rinder spontan befällt und je nach dem Infectionsmodus in einer cutanen (septicaemischen), einer pectoralen (pneumonischen) und einer intestinalen Form auftritt. Die bei der Wildseuche vorkommenden specifischen Bakterien wurden zuerst von Kitt gesehen; durch Kitt und durch Hueppe[3]) ist dann die Krankheit genauer studirt und durch den letzteren Forscher ihre Zugehörigkeit zu der besprochenen Gruppe von Krankheiten, für die Hueppe, wie bereits erwähnt, die Bezeichnung „Septicaemia haemorrhagica“ schuf, festgestellt worden.

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1 1881. p. 102, 104.
[2]) Arbeiten a d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1886.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 44—46.

13. Der Bacillus des grünen oder blauen Eiters.

Der Bacillus des grünen oder blauen Eiters (Bacillus pyocyaneus, Bacterium aeruginosum) ist die Ursache des öfters zu beobachtenden spontanen Grün- oder Blauwerdens des Eiters und der Verbandstoffe in Krankenanstalten. Aus derartigem Eiter kann er durch das Plattenverfahren leicht in Reincultur gewonnen werden.

Der Bacillus ist ein kleines, schlankes Stäbchen von der Länge des Mäusesepticaemiebacillus, aber etwas dicker als dieser (Flügge), welches einzeln oder in kleinen Verbänden auftritt und lebhafte Eigenbewegung besitzt. Das Stäbchen trägt eine einzige Geissel (Loeffler). Die mikroskopische Darstellung der letzteren ist oben (p. 66. Anm. 1) besprochen.

Der Bacillus ist facultativ anaërob. Er wächst auf den gewöhnlichen Nährböden, und zwar bei Zimmertemperatur sowohl wie bei Brüttemperatur.

Auf der Gelatineplatte bilden die Colonien unregelmässig begrenzte, flach ausgebreitete Beläge, in deren Bereich die Gelatine mässig schnell verflüssigt wird, während die Umgebung sehr bald eine grüne Fluorescenz annimmt. Dementsprechend gestaltet sich auch das Wachsthum der Stichcultur. Auch hier tritt lebhafte grüne Fluorescenz ein.

Auf der Agaroberfläche bildet der Bacillus weissliche Beläge, unter denen der Nährboden grün gefärbt wird. Auf Kartoffeln entstehen dicke, gelbgrüne bis bräunliche Ueberzüge, in deren Umgebung die Kartoffel sich grün färbt.

Der von dem Bacillus gebildete grüne resp. blaue Farbstoff wird Pyocyanin genannt. Derselbe ist genauer studirt.

Sporenbildung existirt bei dem Bacillus pyocyaneus nicht.

Der Bacillus bildet giftige Stoffwechselproducte. Er vermag auch, wie die Untersuchungen von Ledderhose[1]) und von Charrin[2]) gezeigt haben, im Körper empfänglicher Thiere sich zu vermehren. Am intensivsten wirkt die intravenöse Einverleibung, weniger intensiv die intraperitoneale oder subcutane. Besonders empfänglich sind Kaninchen und Meerschweinchen. Nach subcutaner Injection nicht zu kleiner Mengen frischer Bouilloncultur gehen die Thiere unter Entwickelung localer eitriger Entzündung bald

---

[1]) Deutsche Zeitschr. f. Chir. Bd. 28. 1888.

[2]) La maladie pyocyanique. Paris 1889.

zu Grunde; bei intraperitonealer Einverleibung entsteht eitrige Peritonitis.

Bei fortgesetzten Uebertragungen von Thier zu Thier scheint die Virulenz des Bacillus zuzunehmen.

Durch Einverleibung kleiner Culturmengen sowie durch Einverleibung der bakterienfreien Stoffwechselproducte des Bacillus lassen sich empfängliche Thiere gegen die Pyocyaneus-Infection immunisiren.

Auch für den Menschen scheint der Bacillus pyocyaneus unter Umständen pathogen werden zu können.

Durch P. Ernst[1]) ist der Nachweis geführt worden, dass es zwei verschiedene Varietäten des Bacillus pyocyaneus („Bac. pyoc. α“ und „Bac. pyoc. β“) giebt. Die α-Varietät producirt einen gelbgrünen Farbstoff, verflüssigt die Gelatine langsam und lässt die ganze, auch die unverflüssigte Gelatine grün fluoresciren; die β-Varietät producirt einen blaugrünen Farbstoff, verflüssigt die Gelatine schnell und hat sehr wenig fluorescirende Kraft.

14. Der Kommabacillus der Cholera asiatica.

Im Jahre 1883 wurde durch Rob. Koch ermittelt, dass in allen Fällen von Cholera asiatica eine ganz bestimmte Bakterienart gefunden wird, und dass diese Bakterienart ausschliesslich bei Cholera asiatica vorkommt. Man findet in den Ausleerungen von Cholerakranken kommaförmig gekrümmte, lebhaft bewegliche Bacillen („Kommabacillen der Cholera“, „Choleravibrionen“); in der frischen Choleraleiche findet man dieselben ebenfalls im Darminhalt, ferner in dem Gewebe der Darmwand, sonst jedoch nirgends im Körper.

Der Cholerabacillus ist ein kommaförmig gekrümmtes Stäbchen, welches in seiner Länge die Hälfte bis zwei Drittel eines Tuberkelbacillus erreicht, aber dicker als dieser ist. Die Bacillen werden meist einzeln angetroffen, und zwar in lebhafter Bewegung. In künstlichen Culturen, besonders wenn der Nährboden bereits anfängt erschöpft zu werden, bilden sich dadurch, dass die Kommabacillen nach der Theilung nicht mehr aus einander fallen, spirillenförmige Gebilde aus. Taf. X, Fig. 55 und 56, zeigen Cholerabacillen aus Gelatineculturen. Auf Fig. 55 sieht man die Stäbchen einzeln liegend, auf Fig. 56 sind Spirillen abgebildet, welche sich in der erwähnten Weise gebildet haben. Die Spirillenbildung fasst man als eine Involutionserscheinung auf. Eine Vergleichung der beiden genannten

[1]) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 2. 1887.

Photogramme, die bei gleicher Vergrösserung hergestellt sind, zeigt auch deutlich, dass die Spirillen dicker sind als die noch frisch vegetirenden Kommabacillen; die Anschwellung des Bakterienleibes bei der Involution hatten wir aber als eine gewöhnliche Erscheinung kennen gelernt (cf. oben p. 15). Die „Spirillen" trifft man, wie gesagt, in künstlichen Culturen häufig. In dem Darmgewebe der Choleraleiche sind sie, soviel bekannt, nur ein einziges Mal, durch Kühne[1]), gefunden worden.

Durch Loeffler[2]) sind an dem Cholerabacillus endständige Geisseln nachgewiesen worden; jedes Komma besitzt eine einzige Geissel, welche an dem einen Ende angeheftet ist. Die mikroskopische Darstellung dieser Geisseln ist oben (cf. p. 66, Anm. 1) ausführlich besprochen. Auf Taf. X, Fig. 57, ist ein nach der Loeffler'schen Methode hergestelltes Präparat von Cholerabacillen dargestellt, welches die Geisseln deutlich erkennen lässt. Die Cholerabacillen erscheinen in dem Photogramm Fig. 55 (in gewöhnlicher Weise gefärbtes Präparat) erheblich dünner als in der Fig. 57 (nach der Loeffler'schen Geisselfärbungsmethode behandeltes Präparat). Der Grund dafür ist, wie wir bereits oben (p. 66, 67) erörterten, der, dass in dem ersteren Präparate nur der Protoplasmakörper, der Kern der Bakterienzellen gefärbt ist, während in dem letzteren Präparate auch die Hülle, die Membran der Zellen die Färbung angenommen hat.

Der Cholerabacillus wächst auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden; er wächst bei Zimmertemperatur sowohl wie bei Brüttemperatur, bei letzterer aber erheblich schneller. Er wächst am besten in Gegenwart von Sauerstoff, kann aber auch Sauerstoffmangel ertragen.

Auf der Gelatineplatte bilden sich zunächst rundlich gestaltete, nicht glatt, sondern etwas unregelmässig, höckerig begrenzte Colonien, die bei 100facher Vergrösserung wie mit kleinen Glasstückchen bestreut erscheinen. Dieselben erscheinen zunächst im Ganzen hell, werden dann, in Folge der Vermehrung der Organismen, in der Mitte etwas undurchsichtiger, in der Durchsicht also dunkler, und zeigen sich am Rande wie mit einem Kranze sehr feiner radiär gerichteter Spitzen besetzt (cf. Fig. 58 auf Taf. X). Hand in Hand mit dem Wachsthum geht eine, nicht sehr schnelle, Verflüssigung der Gelatine. Die Platte zeigt dann an dem Orte der einzelnen Colonien leichte, trichterförmige Einsenkungen, welche das Zeichen

[1]) cf. A. Pfeiffer. Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 11.
[2]) l. c. (siehe oben p. 64).

dafür sind, dass an diesen Stellen mehr von dem Wassergehalt der Gelatine durch Verdunstung verloren gegangen ist als an den übrigen Stellen, d. h. dass hier Verflüssigung der Gelatine eingetreten ist.

Das Wachsthum in der Gelatinestichcultur ist ein dem Wachsthum auf der Platte entsprechendes. Man findet auch hier eine langsame Verflüssigung, namentlich der obersten Teile des Stiches. In dem obersten Theile des Impfstiches kommt es sehr bald zur Bildung einer trichterförmigen Einsenkung der Gelatine; von der Seite her betrachtet sieht man den Impfstich an dieser Stelle erweitert, die Gelatine schliesst hier eine mit der äusseren Luft communicirende runde Luftblase ein. Nach unten zu geht der Trichter über in den nur wenig erweiterten, nur wenig verflüssigten Stichkanal, der den grössten Theil der in der Cultur gewachsenen Bakterienmasse in Form eines zierlich aufgedrehten Fadens enthält. Eine Stichcultur von typischer Gestalt zeigt Fig. 59 auf Taf. X. Später wird dann allmählich die gesammte Gelatine verflüssigt.

Auf der Agaroberfläche wachsen die Cholerabacillen in Form eines grauweissen, saftig glänzenden Ueberzuges.

In Bouillonculturen bilden die Cholerabacillen ausser einer allgemeinen Trübung der Flüssigkeit oberflächliche Kahmhäute. Das Letztere beobachtet man auch in älteren Gelatinestichculturen.

Blutserum wird durch die Bacillen langsam verflüssigt.

Auf Kartoffeln wachsen die Cholerabacillen nur bei Brüttemperatur (cf. p. 22). Sie bilden hier hellgraubraune, durchscheinende, an Rotzbacillenculturen (cf. p. 194) erinnernde Ueberzüge.

Dauerformen sind bei den Cholerabacillen nicht bekannt. Die von Hueppe[1]) statuirte „Arthrosporenbildung" hat mit der Bildung irgendwie besonders resistenter Fruchtformen jedenfalls nichts zu thun (cf. oben p. 17). In alten Culturen findet man häufig kleine Körnchen, Kugeln, ferner allerhand Missbildungen. Diese Dinge sind sammt und sonders als Involutionsformen aufzufassen.

Die Cholerabacillen verlangen zu ihrem Gedeihen einen schwach alkalischen Nährboden; gegen die geringsten Mengen freier Säure (namentlich Mineralsäure) verhalten sie sich sehr empfindlich. Ein Zusatz von 0,07 bis 0,08 % Salz- oder Salpetersäure zum neutralen Nährboden hemmt bereits die Entwickelung (Kitasato[2]). Diese Empfindlichkeit gegen Säuren ist der Grund, weshalb die Cholerabacillen den normalen Magen des Menschen gewöhnlich

[1]) Fortschr. d. Med. 1885. No. 19.
[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1888.

nicht lebensfähig zu passiren vermögen. Dasselbe gilt auch, wie wir sehen werden, für Versuchsthiere.

Ausser gegen Säuren verhalten sich die Cholerabacillen auch gegen alle übrigen chemischen Desinfectionsmittel, ferner gegen höhere Temperaturen und gegen das Austrocknen ausserordentlich empfindlich. Sie sind stets leicht zu vernichten. Wir erwähnten bereits oben (p. 27), dass ein drei Stunden langes wirkliches Trockenliegen die Cholerabacillen tödtet. Im feuchten Zustande, z. B. in künstlichen Reinculturen (namentlich auf der Agaroberfläche) kann man die Cholerabacillen mehrere Monate lang lebensfähig erhalten.

Die Cholerabacillen sind facultative, gelegentliche Parasiten. Sie finden ohne Zweifel draussen in der Natur an geeigneten Stellen die Bedingungen für ihr Fortkommen. Dies gilt namentlich für die Länder, in denen die Cholera endemisch ist.

Koch fand (cf. oben p. 132) die Cholerabacillen in dem Wasser eines ostindischen Tank. Im Allgemeinen aber kommen die Cholerabacillen in gewöhnlichem Wasser nicht gut weiter. Sie werden (cf. oben p. 132) von den Wasserbakterien bald überwuchert und unterdrückt. Dagegen ist sterilisirtes, keimfreies Wasser — und zwar Wasser jedweder Herkunft — ein Medium, in welchem sich die Cholerabacillen wohlbefinden, und in dem sie sich nicht unbeträchtlich vermehren können. Ferner ist die Möglichkeit natürlich nicht ausgeschlossen, dass sie gelegentlich — bei Epidemien — auch auf andere Nährböden, auf zubereitete Speisen etc., gelangen und sich dort vermehren.

Die ersten Versuche Koch's, für die Cholera empfängliche Versuchsthiere zu finden, hatten keinen Erfolg. Nicati und Rietsch gelang es dann, Meerschweinchen erfolgreich dadurch zu inficiren, dass sie nach Unterbindung des Ductus choledochus den Thieren die Reincultur direct in das Duodenum injicirten. Es wurde auf diese Weise erstens die deletäre Einwirkung des sauren Magensaftes auf die Cholerabacillen umgangen und zweitens durch Absperrung der Galle die Darmperistaltik herabgesetzt. Der letztere Punkt ist von wesentlicher Bedeutung für die Ermöglichung der Ansiedelung der Cholerabacillen im Meerschweinchendarme. Koch[1]) erreichte dann eine erfolgreiche Infection der Meerschweinchen vom Magen aus dadurch, dass er den Thieren zunächst den Mageninhalt mit Sodalösung neutralisirte (er brachte denselben 5 ccm 5 proc.

---

[1]) Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. Zweites Jahr. 1885. Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 37 A. p. 5, 6.

Sodalösung mit Hülfe der Schlundsonde in den Magen), und dass er dann zur Herabsetzung der peristaltischen Darmbewegungen eine kleine Quantität Opiumtinctur den Thieren in die Bauchhöhle injicirte. Wurden nun den Meerschweinchen Cholerabacillen in den Magen gebracht, so gingen die Thiere nach etwa 2 Tagen zu Grunde und zeigten bei der Section einen Befund, der mit dem der menschlichen Cholera übereinstimmt. Es fand sich starke Röthung des Dünndarmes. Derselbe war mit wässeriger Flüssigkeit gefüllt, welche reich an Kommabacillen war. Erbrechen oder Diarrhöe zeigten die Meerschweinchen nicht, aber lähmungsartige Schwäche der Hinterextremitäten, welche lebhaft an die menschliche Cholera erinnerte. So inficirte Thiere gehen, ebenso wie es bei dem an der natürlichen Cholerainfection sterbenden Menschen der Fall ist, an der Vergiftung durch die im Darme bei der Vermehrung der Bacillen gebildeten specifischen Stoffwechselproducte der letzteren zu Grunde (cf. p. 149, 150).

Beim Menschen geschieht die natürliche Infection ebenfalls vom Darmkanal aus. Es ist dazu nothwendig, dass die Bacillen, die mit der Nahrung, mit Trinkwasser etc. eingeführt werden, den Magen in entwickelungsfähigem Zustande passiren. Ist der Magen nur mässig gefüllt, sein Inhalt sauer, so dürften die Bacillen die Barrière des Magens wohl selten überschreiten können.

In der Choleraleiche finden sich, wie bereits gesagt, die Kommabacillen nur im Inhalte des Darmes und in dem Gewebe der Darmwand, sonst nirgends, nicht im Blut, nicht in den Organen. Beim Cholerakranken findet man sie in den Ausleerungen. Die characteristischen Culturmerkmale in Verbindung mit den den Bacillen zukommenden morphologischen Kennzeichen sichern in zweifelhaften Krankheitsfällen (z. B. ersten Fällen einer Epidemie) die Diagnose.

Künstliche Cholerabacillenculturen in peptonhaltigen Nährböden zeigen eine bestimmte chemische Reaction („Cholerareaction"). Versetzt man nämlich eine derartige Cultur mit chemisch reiner Salz- oder Schwefelsäure, so nimmt sie eine leichte Rosafärbung an. Es bildet sich hierbei ein bestimmter Farbstoff („Choleraroth"). Am besten gelingt die Reaction mit peptonhaltiger Fleischbrühe (Bouillon) oder einfacher 1 proc. Peptonlösung, in welcher die Bacillen 24 Stunden lang bei Brüttemperatur gewachsen sind. Zur Beschleunigung der Reaction kann man die Flüssigkeit nach dem Säurezusatz etwas erhitzen. Diese Reaction wurde zuerst von Bujwid[1]) auf-

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887.

gefunden. Der Befund wurde dann von mehreren Forschern bestätigt. Von manchen Seiten wurde die genannte Reaction als für die Cholerabacillen specifisch hingestellt; von anderen Seiten jedoch wurden gegen die Specifität der Reaction Einwände erhoben: man behauptete, dieselbe käme auch anderen Kommabacillenarten zu, die zwar morphologisch den Cholerabacillen ähnlich sind, sonst aber nichts mit ihnen zu thun haben. Durch Salkowski[1]) ist die Frage endgültig entschieden worden. Salkowski hat den Nachweis geliefert, dass die Cholerareaction weiter nichts ist als die gewöhnliche Indolreaction (Indol + Salpetrige Säure = Rothfärbung). Es giebt eine grosse Reihe von Bakterienarten, denen die Eigenthümlichkeit zukommt, aus den Eiweisskörpern des Nährbodens Indol zu produciren, während anderen Arten (z. B. dem Typhusbacillus; cf. p. 198) diese Fähigkeit abgeht. Zu den indolproducirenden Arten gehört nun auch der Cholerabacillus; es gehören dazu ferner mehrere (weiterhin noch zu besprechende) Arten von Kommabacillen, nämlich der Kommabacillus von Finkler, der Kommabacillus von Deneke und der Vibrio Metschnikoff. Setzt man zu der Bouilloncultur einer dieser Arten salpetrige Säure oder, was auf dasselbe hinauskommt, ein Gemenge von Kaliumnitrit und Schwefelsäure, so tritt Rothfärbung ein. Nun hat aber der Cholerabacillus (und der Vibrio Metschnikoff theilt diese Eigenschaft) die fernere Eigenthümlichkeit, die geringen Mengen von Nitraten, welche sich in dem Nährboden stets vorfinden, zu Nitriten zu reduciren[2]), während dem Finkler'schen und dem Deneke'schen Kommabacillus diese Eigenschaft abgeht. In Choleraculturen und in Culturen des Vibrio Metschnikoff sind also stets Indol und Nitrite vorhanden. Wird nun reine Salz- oder Schwefelsäure zugesetzt, so wird salpetrige Säure frei, welche die characteristische Indolreaction veranlasst, während bei den Finkler'schen und den Deneke'schen Kommabacillen bei dem Zusatz reiner (salpetrigsäurefreier) Mineralsäuren die genannte Reaction selbstverständlich ausbleiben muss.

Der Cholerabacillus färbt sich mit wässerigen Anilinfarbstofflösungen. Nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.) färbt sich der Cholerabacillus nicht.

---

[1]) Virch. Arch. Bd. 110. 1887.

[2]) cf. Petri, Centr. f. Bakt. Bd. 5. 1889. No. 17—18.

15. Der Kommabacillus von Finkler und Prior und der Miller'sche Kommabacillus.

Mit dem Koch'schen Kommabacillus der Cholera asiatica für identisch gehalten wurde von Finkler[1]) und Prior eine Kommabacillenart, welche diese Forscher in Darmentleerungen bei Cholera nostras fanden. Eine genauere Prüfung des Finkler'schen Kommabacillus hat ergeben, dass derselbe von dem Cholerabacillus total verschieden ist, dass derselbe aber auch mit der Cholera nostras nicht das Geringste zu thun hat. Der Finkler'sche Bacillus erscheint identisch mit einem von W. D. Miller[2]) aus einem cariösen Zahne isolirten Kommabacillus.

Der Finkler'sche Kommabacillus („Vibrio Proteus") erscheint etwas grösser als der Cholerabacillus, ist im Uebrigen morphologisch kaum von dem letzteren zu unterscheiden. Er ist sehr lebhaft beweglich, wächst in künstlichen Culturen, wie dies auch der Cholerabacillus thut, häufig zu Spirillen aus (beginnende Involution). Die Kommabacillen tragen je eine Geissel, die, wie bei den Cholerabacillen, an dem einen Ende angebracht ist.

Auf künstlichen Nährböden cultivirt unterscheidet sich der Finkler'sche Bacillus ausserordentlich von dem Cholerabacillus. Er wächst bei Zimmertemperatur ganz unvergleichlich viel schneller, verflüssigt die Gelatine viel energischer. Taf. X, Fig. 60, zeigt eine Gelatinestichcultur der Finkler'schen Bacillen, die mit der daneben, Fig. 59, dargestellten Cholerabacillencultur zu derselben Zeit in identischem Nährboden angelegt, auf demselben Reagenzglasgestell gehalten und nach 9 Tagen zugleich mit der Choleracultur photographirt wurde. Man sieht ohne Weiteres die grossen Unterschiede in der Gestalt der Culturen. Die Finkler'schen Bacillen sind also leicht von den Cholerabacillen zu unterscheiden.

Auf der Gelatineplatte ist das Wachsthum des Finkler'schen Bacillus ein der Stichcultur entsprechendes. Es bilden sich hier schnell kreisrunde, schnell an Umfang zunehmende Colonien, in deren Bereich die Gelatine verflüssigt ist.

Auf Agar bilden sich grauweisse, glänzende Ueberzüge aus. In Bouillonculturen bildet sich die Kahmhaut nicht so schnell wie bei den Cholerabacillen.

---

[1]) Tageblatt d. 58. Vers. deutsch. Naturf. u. Aerzte. Strassburg. 1885. p. 438—440. — Ergänzungshefte z. Centralbl. f. allg. Ges.-Pfl. Bd. 1. 1885. p. 279 ff.

[2]) Verein f. inn. Med. 16. Febr. 1885. — Deutsche med. Woch. 1885. p. 138.

Auf Kartoffeln wächst der Finkler'sche Bacillus — zum Unterschiede von dem Cholerabacillus — schon bei gewöhnlicher Temperatur. Er bildet hier graugelbe, schleimige Beläge, welche rasch die ganze Oberfläche der Kartoffel überziehen.

Die Finkler'schen Bacillen sind für Meerschweinchen pathogen. Die Pathogenität für die Meerschweinchen ist eine geringere als die des Cholerabacillus. Man kann die Thiere, ebenso wie dies bei dem Cholerabacillus geschah, mit den Finkler'schen Kommabacillen vom Darmkanal aus inficiren. Der Darminhalt zeigt — zum Unterschiede von der Cholerainfection — starken Fäulnissgeruch.

Die Indolreaction (p. 213) zeigen die Finkler'schen Bacillen bei Anwendung reiner Mineralsäuren nicht.

In der menschlichen Pathologie scheinen die Finkler'schen Bacillen eine Rolle nicht zu spielen.

16. Der Deneke'sche Kommabacillus.

Aus altem Käse züchtete Deneke[1]) eine Kommabacillenart, welche mit dem Cholerabacillus erheblich grössere Aehnlichkeiten aufweist, als dies der Finkler'sche Bacillus thut. In Bezug auf die Schnelligkeit des Wachsthums steht der Deneke'sche Bacillus zwischen dem Finkler'schen und dem Cholerabacillus. Die Gelatine wird verflüssigt, die Colonien sind gelblich gefärbt. Oft kommt es zur Bildung von Spirillen. Für Meerschweinchen zeigt der Deneke'sche Bacillus ebenfalls eine, wenn auch nur geringe, Pathogenität.

17. Der Vibrio Metschnikoff.

Im Jahre 1888 publicirte Gamaleïa[2]) Untersuchungen über eine in Odessa im Sommer epizootisch vorkommende, äusserlich der Hühnercholera sehr ähnliche, Krankheit des Geflügels, namentlich junger Hühner („Gastro-entérite cholérique“). Pathologisch-anatomisch unterscheidet sich die Krankheit von der Hühnercholera besonders dadurch, dass die Milzschwellung fehlt, und dass der Darm einen mehr choleraähnlichen Zustand zeigt. Gamaleïa führte den Nachweis, dass die genannte Krankheit veranlasst wird durch eine

---

[1]) Deutsche med. Woch. 1885. No. 3.
[2]) Annales de l'Inst. Pasteur. 1888. No. 9, 10.

bestimmte Kommabacillenart („Vibrio Metschnikovi“), welche dem Cholerabacillus in vieler Beziehung ausserordentlich ähnlich ist.

Eine genauere Kenntniss des Vibrio Metschnikoff verdanken wir R. Pfeiffer[1]) und Nocht. Die Autoren haben sich im Koch'schen Institute eingehend mit dem genannten Mikroorganismus beschäftigt.

Der Vibrio Metschnikoff ist ein gekrümmtes Stäbchen, ein Kommabacillus. Seine Zellen sind etwas kürzer, dicker und stärker gekrümmt als die des Cholerabacillus. Der Organismus ist lebhaft eigenbeweglich. Die Bewegung wird vermittelt durch einen langen, sehr feinen Geisselfaden, welcher, wie beim Cholerabacillus, dem einen Ende der Zelle angeheftet ist. Die Geisseln lassen sich nach der oben (p. 65 ff.) beschriebenen Loeffler'schen Methode gut darstellen. In künstlichen Culturen zeigen sich häufig (ähnlich wie beim Cholerabacillus) Spirillenbildungen.

Der Vibrio Metschnikoff ist facultativ anaërob. Er wächst auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden bei Zimmer- sowohl wie bei Brüttemperatur; bei letzterer wächst er schneller.

Auf der Gelatineplatte zeigen nicht alle Colonien des Vibrio M. identisches Aussehen. Während eine Reihe von Colonien in ihrer Gestalt, der Schnelligkeit ihres Wachsthums und der Verflüssigung der Gelatine von Colonien des Finkler'schen Kommabacillus makroskopisch sowohl wie mikroskopisch kaum zu unterscheiden sind, zeigen andere Colonien derselben Platte in den genannten Beziehungen ausserordentliche Aehnlichkeit mit dem Cholerabacillus. Der Vibrio M. neigt also sehr dazu, Spielarten zu bilden. In der Gelatinestichcultur zeigt sich die Wachsthumsschnelligkeit des Vibrio M. etwa der des Deneke'schen Kommabacillus entsprechend. Im Uebrigen sind Gelatinestichculturen des Vibrio M. von entsprechend älteren Cholerabacillusculturen in ihrem Aussehen nicht zu unterscheiden.

Auf der Agaroberfläche bildet der Vibrio M. Beläge, welche denen des Cholerabacillus gleichen.

Bouillonculturen des Vibrio M. zeigen allgemeine Trübung und oberflächliche Kahmhautbildung, genau wie Cholerabacillusculturen. Durch Zusatz von salpetrigsäurefreien Mineralsäuren erhält man Rothfärbung (Indolreaction) genau wie bei Choleraculturen (cf. oben p. 213).

Auf Kartoffeln wächst der Vibrio M. (wie dies auch der Cholerabacillus thut) nur bei Brüttemperatur. Es bilden sich hier dünne, braune Ueberzüge.

---

[1]) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 7. 1889.

Sporenbildung ist bei dem Vibrio M. nicht nachgewiesen.

Leicht und mit Sicherheit von dem Cholerabacillus zu unterscheiden ist der Vibrio Metschnikoff durch den Thierversuch. Tauben (die der Cholerainfection kaum zugänglich sind) bilden geradezu ein Reagens auf den Vibrio M. Impft man einem solchen Thiere eine minimale Menge der Cultur in den Brustmuskel, so geht das Thier innerhalb von 20 Stunden zu Grunde. Es findet sich eine ausgedehnte gelbliche Verfärbung und Nekrose des geimpften Muskels; derselbe ist von einem blutigen Oedem durchtränkt, in welchem die Vibrionen massenhaft zu finden sind. Ebenso finden sich die Vibrionen in ungeheuren Mengen im Herzblut. Die Lungen zeigen sich blutreich, Leber und Milz anaemisch und schlaff. Der Darm ist blass, mit mehlsuppenartiger Flüssigkeit in mässigem Grade erfüllt. Hier finden sich Vibrionen nur in geringerer Anzahl. Vom Magen aus sind Tauben kaum zu inficiren. Junge Hühner verhalten sich genau wie Tauben. Nur finden sich in ihrem Herzblut nicht so ungeheure Mengen der Vibrionen wie bei Tauben.

Mäuse sind wenig empfänglich.

Sehr empfänglich sind dagegen Meerschweinchen. Diese Thiere lassen sich sowohl subcutan wie vom Magen aus tödtlich inficiren; in dem letzteren Falle muss man (wie bei der experimentellen Erzeugung der Meerschweinchencholera [cf. p. 211]) den Mageninhalt vorher mit Sodalösung alkalisch machen und durch intraperitoneale Einverleibung von Opiumtinctur die Darmperistaltik eliminiren.

Die Vertheilung der Vibrionen in dem Körper der an der Infection zu Grunde gegangenen Thiere hat R. Pfeiffer veranlasst, den Namen „Vibrionensepticaemie" für die durch den Vibrio M. veranlasste Krankheit vorzuschlagen.

Meerschweinchen und Tauben lassen sich durch Einverleibung sterilisirter Culturen gegen die Infection mit lebenden Culturen immunisiren.[1]) Zu bemerken ist hier, dass ältere Bouillonculturen des Vibrio M. stark alkalisch reagiren. Dieselben enthalten einen auf die empfänglichen Versuchsthiere äusserst giftig einwirkenden chemischen Körper gelöst. Neutralisirt man die (vorher im Dampftopf bei 100° C. sterilisirten) Bouillonculturen mit Salzsäure, so bleibt

---

[1]) Gamaleïa hatte angegeben, dass der Vibrio M. sich benutzen lässt, um Thiere gegen die Infection mit dem Cholerabacillus zu immunisiren, und dass umgekehrt auch mit Hülfe des Cholerabacillus Thiere gegen Infection mit dem Vibrio M. immun gemacht werden können. R. Pfeiffer und Nocht haben nachgewiesen, dass von einer solchen wechselseitigen Immunität keine Rede ist.

die Giftigkeit derselben ungeändert; die Neutralisation mit Schwefelsäure hingegen schwächt die Giftwirkung erheblich ab.

Der Vibrio Metschnikoff färbt sich mit kalten Farblösungen; er färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (cf. p. 87 ff.).

18. Der Emmerich'sche Bacillus (Bacillus Neapolitanus).

Von Emmerich[1]) in München wurde (1884) aus älterem Material von Choleraleichen ein Bacillus gezüchtet, der in seinem morphologischen Verhalten sowohl wie in seiner Biologie von dem Cholerabacillus grundverschieden ist, den aber Emmerich auf Grund von Thierversuchen als den Erreger der Cholera asiatica proclamirte. Es hat sich in der Folge, namentlich durch gründliche Untersuchungen von Weisser[2]), gezeigt, dass der Emmerich'sche Bacillus, der „Neapler Cholerabacillus", ein Mikroorganismus ist, der in menschlichen Faeces, normalen sowohl wie nicht normalen, in der Luft und in faulenden Flüssigkeiten ganz gewöhnlich gefunden wird, und der nicht das Allergeringste mit der Cholera zu thun hat.

Der Emmerich'sche Bacillus ist ein unbewegliches Kurzstäbchen. Er lässt sich leicht auf den gewöhnlichen Nährböden züchten. Die Gelatine wird niemals verflüssigt. Der Bacillus wächst auf der Gelatine besonders oberflächlich. Die Oberfläche dieses Nährbodens überzieht sich mit einer grauweisslichen, irisirenden, dünnen, unregelmässig begrenzten Auflagerung, welche an das Wachsthum der Typhusbacillen erinnert. Auf der Kartoffel kommen gelbbräunliche, schmierige Ueberzüge zu Stande.

Für Meerschweinchen ist der Emmerich'sche Bacillus pathogen.

Nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.) färbt sich der Bacillus nicht.

19. Der Gonorrhoecoccus.

Bei den gonorrhoischen Affectionen der Harnröhre und der Conjunctiva wurden 1879 durch Neisser[3]) eigenthümlich gestaltete Mikrococcen im Eiter entdeckt. Dieselben schienen einen für die Gonorrhoe specifischen Befund darzustellen und wurden von Neisser mit dem Namen „Gonococcus" belegt.

Die Beobachtungen von Neisser wurden vielfach bestätigt. Es

---

[1]) Deutsche med. Woch. 1884. No. 50.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886.

[3]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1879. No. 28.

gelang dann hauptsächlich Bumm [1]), den Gonococcus in sicheren Reinculturen zu gewinnen und durch Uebertragung der Reinculturen typische Gonorrhoe beim Menschen hervorzurufen.

Der Gonorrhoecoccus wird im Trippereiter, und zwar innerhalb der Eiterzellen, gefunden. Die Coccen, welche in grösserer oder geringerer Anzahl um die Kerne der Zellen herum gruppirt sind, erscheinen gewöhnlich im Zustande der Theilung, als Diplococcen. Die einzelnen Coccen erscheinen dann gewöhnlich nieren-, semmelförmig; die Hilen der Nieren sind einander zugekehrt. Fig. 62 auf Taf. XI zeigt die typische Erscheinungsweise der Gonococcen im Trippereiter. Man erkennt hier unschwer die Umgrenzungen der Eiterzellen, innerhalb deren die grossen, mehrfachen Kerne liegen, um welche herum dann die Coccen gruppirt sind.

Die Gonococcen lassen sich künstlich züchten, aber nur auf Blutserum, bei Brüttemperatur. Am besten eignet sich menschliches Blutserum, welches man nach Bumm's Vorgang aus Placenten gewinnen kann (cf. p. 104). Die Cultur bildet auf dem erstarrten Blutserum sehr zarte, durchsichtige, wenig ausgedehnte Ueberzüge, die gewöhnlich zackige Vorsprünge und scharf geschnittene Ränder haben. Die Uebertragung auf neuen Nährboden muss sehr bald geschehen, da in 3 Tagen etwa die Cultur bereits abzusterben beginnt.

Auf Thiere lässt sich die Gonorrhoe überhaupt nicht übertragen.

Künstliche Infection des Menschen mit den künstlichen Culturen gelang, wie bereits gesagt, Bumm.

Der Gonococcus färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.). Deckglaspräparate von Trippereiter färbt man am besten mit einfacher wässerig-alcoholischer Methylenblaulösung (cf. p. 55). Die Coccen erscheinen dann tief dunkelblau, die Kerne der Eiterzellen weniger dunkelblau.

Der Nachweis der typischen Gestalt der Coccen in Verbindung mit dem Nachweise der Lagerung innerhalb der Eiterzellen berechtigt zur Diagnose „Gonorrhoe".

Die häufig auftretenden Folgekrankheiten der Gonorrhoe, die Tripperbartholinitis, Trippercystitis, Tripperparametritis, die Tripperbubonen, ferner die Gelenkentzündungen nach Tripper etc., verdanken ihre Entstehung, wie wir durch Bumm [2]) wissen, der secundären Einwanderung pyogener Organismen in das durch die Gonococcen dafür disponirte Gewebe.

---

[1]) Der Mikroorganismus der gonorrhoischen Schleimhauterkrankungen „Gonococcus-Neisser". Wiesbaden. 1887.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 49.

20. Der Streptococcus des Erysipels.

Das constante Vorkommen von Streptococcen in der erysipelatösen Haut, und zwar das constante Vorkommen derselben am Rande des Erysipels und ihre ausschliessliche Anwesenheit in den Lymphgefässen, wurde zuerst durch R. Koch[1]) festgestellt. Fehleisen[2]) gelang es dann, die bei dem Erysipel gefundenen Streptococcen künstlich zu züchten und ihre pathogene Bedeutung durch erfolgreiche Verimpfung der Culturen auf Kaninchen und auf eine Anzahl von Menschen sicher zu stellen. Die Verimpfungen erzeugten typisches Erysipel.

Der Streptococcus des Erysipels ist, wie der Name sagt, ein in Kettenform angeordneter Micrococcus. Die Ketten können aus wenigen, aber auch sehr vielen einzelnen Coccen bestehen. Der Coccus wächst in künstlichen Culturen bei Zimmer- und bei Brüttemperatur, bei letzterer schneller. Auf der Gelatineplatte erreichen die Colonien nur sehr geringen Umfang. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. In der Gelatinestichcultur bilden sich längs des Impfstiches sehr kleine, weisse, kugelrunde Colonien aus.

Streicht man das Material auf der Oberfläche von Nährgelatine oder von Agar aus, so kommt es auf den besäeten Stellen des Nährbodens zur Entwickelung kleiner, runder, durchscheinender, feinsten Thautröpfchen vergleichbarer Häufchen, welche dauernd von einander isolirt bleiben.

Auf Kartoffeln scheinen die Erysipelascoccen nicht oder kaum zu wachsen.

Die erfolgreiche Uebertragung der Coccen resp. die künstliche Erzeugung von Erysipel durch ihre Uebertragung ist, wie oben erwähnt, bei Menschen sowohl wie bei Kaninchen gelungen. Nach der Impfung am Ohr bekommen die Kaninchen eine von der Impfstelle aus auf Kopf und Nacken sich ausbreitende, mit Temperatursteigerung verlaufende erysipelatöse Hautentzündung, die in etwa 6—10 Tagen ihr Ende erreicht und in Genesung übergeht. In den erkrankten Partien findet man beim Kaninchen die Coccen genau so angeordnet wie bei dem Erysipel des Menschen, so dass es sich in der That um typisches Erysipel handelt. Mäuse erscheinen unempfänglich.

Bei der natürlichen Infection des Menschen bilden Hautverletzungen wohl ohne Zweifel die Eingangspforte für den Erreger.

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 38, 39 und Tafel I, II.
[2]) Die Aetiologie des Erysipels. Berlin. 1883.

Die Erysipelascoccen färben sich mit wässerigen Farblösungen; sie färben sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

21. Die Eitermikrococcen (pyogene Coccen).

Wo wir Eiterungen im Organismus antreffen, da finden sich auch Mikroorganismen. Dieser Satz hat für natürliche Verhältnisse ganz allgemeine Gültigkeit. Nur auf besonders künstliche Weise können wir, experimentell, Eiterung erzeugen, ohne dass Mikroorganismen dabei betheiligt sind.[1] Unter natürlichen Verhältnissen wird die Eiterung stets durch Infection mit Mikroorganismen hervorgerufen.

Die verbreitetsten Eitermikroorganismen sind die („pyogenen") Staphylococcen. Dieselben wurden in acuten Abscessen mikroskopisch constant zuerst von Ogston gefunden. J. Rosenbach, Passet, F. Krause, Garrè, Hoffa und andere Autoren studirten die Staphylococcen mit Hülfe der modernen Reinculturmethoden und wiesen die ausgedehnte Bedeutung derselben in der menschlichen Pathologie nach.

Es giebt eine ganze Reihe von pyogenen Staphylococcen. Der ver-

---

[1]) Scheurlen (Langenb. Arch. Bd. 36. 1887) sah nach Injection von sterilen Ptomaïnen Eiterung auftreten; Grawitz und de Bary (Virch. Arch. Bd. 108. 1887) haben gefunden, dass man durch subcutane Injection steriler chemisch reizender Flüssigkeiten, wie 5 proc. Lösung von Argent. nitric., stärkerer Ammoniakflüssigkeit, Terpentinöl, bei Hunden Abscesse erzeugen könne; Steinhaus (Die Aetiologie der acuten Eiterungen. Monographie. Leipzig. 1889) wies eiterungserregende Fähigkeit auch für andere sterile chemische Körper nach.

H. Buchner (Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. No. 11) hat dann für eine grosse Reihe von Bakterienarten den Nachweis geführt, dass ihre eiterungserregende Fähigkeit an eine Substanz gebunden ist, welche primär in der Bakterienzelle vorhanden ist. Liess nämlich Buchner sterilisirte Culturaufschwemmungen wochenlang stehen, so war, nachdem sich die Bakterienzellen zu Boden gesetzt hatten, nur der Bodensatz eiterungserregend, nicht die Flüssigkeit. Aus Culturen des Bac. pneumoniae gelang es Buchner einen Eiweisskörper darzustellen, welcher bei Kaninchen sehr starke (aseptische) Eiteransammlung bewirkte. Die Culturen wurden zu dem Zwecke mit 0,5 proc. Kalilauge behandelt, und die entstandene Lösung wurde dann mit Säuren gefällt. Die Präcipitate wurden dann wieder gelöst, wieder gefällt, und diese Procedur wurde so mehrmals wiederholt. Diese von Buchner entdeckten, in der Bakterienzelle vorhandenen eiterungserregenden Eiweisskörper scheinen eine hochgradige Beständigkeit zu besitzen. Selbst stundenlange Erhitzung auf 120° C. im Dampfkessel vernichtet ihre eiterungserregende Fähigkeit nicht. — Für den Tuberkelbacillus hat R. Koch (cf. oben p. 187, Anm. 2) die Anwesenheit einer eiterungserregenden chemischen Substanz in der Bakterienzelle nachgewiesen.

breitetste, wichtigste, giftigste ist der Staphylococcus pyogenes aureus; der zweitwichtigste ist der Staphylococcus pyogenes albus. Daneben hat man noch einen Staph. pyog. citreus, einen Staph. cereus albus und einen Staph. cereus flavus statuirt. Wir wollen nur die ersten beiden etwas genauer betrachten.

Ausser den pyogenen Staphylococcen haben auch noch andere Mikroorganismen eiterungserregende Eigenschaft. Unter diesen ist der Streptococcus pyogenes der bei Weitem wichtigste. Auch diesen werden wir daher besonders zu betrachten haben.

a. Der Staphylococcus pyogenes aureus.

Der Staphylococcus pyogenes aureus wurde zuerst (aus Abscessen) von J. Rosenbach[1]) reincultivirt. Der Coccus tritt als Kügelchen von durchschnittlich 0,7 μ Durchmesser auf. Die Kügelchen gruppiren sich gern zu weintraubenähnlichen (cf. p. 11) Zusammenlagerungen. Daher der Name „Staphylococcen“. Auf Taf. XI, Fig. 63, ist ein Präparat von Staphylococcus aureus dargestellt, welches die „Weintrauben“ gut erkennen lässt.

Der Staphylococcus aureus wächst auf den gewöhnlichen Nährböden, bei Brüttemperatur besser als bei Zimmertemperatur. Auf der Gelatineplatte bildet er zunächst weisse, dann orangegelb werdende runde Colonien, die eine nur mässige Grösse erreichen und die Gelatine mässig schnell verflüssigen. In der Gelatinestichcultur ist das Wachsthum ein dem entsprechendes. Die oberen Theile des Impfstiches werden zunächst verflüssigt.

Auf Agar bildet der Coccus einen feuchtglänzenden orangegelben Ueberzug; fand die Züchtung im Brütschrank statt, so erscheinen die Ränder der Cultur häufig weiss. Auf der Kartoffeloberfläche entwickeln sich saftige gelbe Beläge.

Der Staphylococcus aureus ist ziemlich resistent gegen das Austrocknen und gegen die verschiedensten chemisch oder physikalisch wirkenden Desinfectionsmittel.

Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen sind durch cutane Impfung mit dem Coccus nicht zu inficiren; bei subcutaner Einverleibung entstehen gewöhnlich locale Abscesse, welche in Genesung übergehen. Injicirt man Kaninchen den Coccus in das Blut, so gehen die Thiere unter Auftreten eitriger Entzündungen, namentlich der Gelenke, sowie unter Bildung metastatischer eitriger Herde und Infarcte, namentlich in den Nieren, zu Grunde.

[1]) Mikroorganismen bei den Wundinfectionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden 1884.

In den so häufig in unserer Haut auftretenden Furunkeln sowie in den durch Zusammenhäufung mehrerer Furunkel entstehenden eitrigen Carbunkeln findet sich der Staphylococcus aureus gewöhnlich. Er vermag, wie dies Garrè[1]) experimentell an sich selbst festgestellt hat, durch die unverletzte Haut einzudringen und eitrige Hautentzündungen zu erzeugen. Nach Garrè's Ansicht scheint die Infection hierbei ihren Weg durch die Ausführungsgänge der Hautdrüsen zu nehmen. Ausser dem Furunkel resp. Carbunkel verdankt auch das Panaritium seine Entstehung gewöhnlich der Infection mit dem Staphylococcus aureus. Damit ist aber die Rolle dieses Coccus in der menschlichen Pathologie nicht erschöpft. Bei[2]) den acuten (heissen) Abscessen sowie den (mehr circumscripten) Phlegmonen der Haut, bei Impetigo, Sycosis, Blepharoadenitis, Conjunctivitis phlyctaenulosa findet er sich. Ferner wird er bei der acuten infectiösen Osteomyelitis ganz regelmässig gefunden. Dann findet er sich bei Lymphdrüseneiterungen, in Empyemen, bei Gelenk- und Schleimbeuteleiterungen, im Tonsillarabscess, in den eitrigen Secretpfröpfen bei Angina lacunaris, in Mammaabscessen, bei Parotiseiterungen, bei idiopathischer Cerebrospinalmeningitis, bei Strumitis, eitriger Peripleuritis, bei der sympathischen Ophthalmie. Zu bemerken ist, dass in den erwähnten Fällen auch andere Eitercoccenarten, namentlich der Staphylococcus albus, angetroffen werden können. Häufig sind Mischbefunde.

Ausser in diesen Fällen primärer resp. localer Eiterungen wird der Staphylococcus aureus auch als Erreger secundärer Eiterungen angetroffen. Allerdings spielt er in dieser Beziehung eine weniger hervorragende Rolle als der weiter unten zu betrachtende Streptococcus pyogenes. Oben hatten wir schon gesehen, dass der Staphylococcus aureus, Kaninchen in die Blutbahn gebracht, metastatische Eiterungen veranlasst. Orth und Wyssokowitsch[3]) fanden dann, dass, wenn man den Kaninchen vor der Staphylococcusinjection in das Blut eine Verletzung der Herzklappen macht (durch Einführung eines Instrumentes in die Carotis), die Staphylococcen sich dann in dem verletzten Endocard ansiedeln und acute ulceröse Endocarditis veranlassen. Ribbert[4]) gelang die

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1885, p. 170, 171.

[2]) Nach Baumgarten, Lehrbuch d. path. Mykologie. Braunschweig 1890. Bd. 1. p. 297 ff.

[3]) Centr. f. d. med. Wiss. 1885. No. 33. — Virch. Arch. Bd. 103. 1886.

[4]) Fortschr. d. Med. 1886. No. 1.

experimentelle Erzeugung dieser Affection auch ohne vorherige Klappenverletzung, und zwar gelang sie dadurch, dass er sehr kleine Kartoffelbröckchen den Thieren injicirte, die mit Staphylococcuscultur imprägnirt waren. Diese Thierversuche wurden angestellt, nachdem man beim Menschen in Fällen von ulceröser Endocarditis (die [nach Baumgarten] in den meisten Fällen wohl als Localisation eines von einem anderen Herde eingeleiteten Allgemeinleidens auftritt) Staphylococcen in den Klappenwucherungen nachgewiesen hatte. Ebenso haben sich Staphylococcen später auch bei verrucöser Endocarditis auffinden lassen.[1])

Der Staphylococcus aureus färbt sich mit wässerigen Farblösungen; er färbt sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

b. Der Staphylococcus pyogenes albus.

Der Staphylococcus pyogenes albus ist vielleicht nur als Varietät des Staphylococcus aureus aufzufassen. Er zeigt weisse, nicht gelbe Culturen, ist etwas weniger giftig für den Thierkörper als der Staph. aureus. Im Uebrigen gleicht er dem letzteren vollständig.

c. Der Streptococcus pyogenes.

Manche Eiterungen haben die Tendenz, sich auf dem Wege der Lymphbahnen fortzupflanzen, Lymphangitis, Lymphadenitis zu bewirken. Diese „phlegmonösen" Eiterungen sind es, bei welchen der Streptococcus pyogenes regelmässig angetroffen wird.

Handelt es sich hier häufig um local bleibende Ansiedlung des Streptococcus, die bei geeigneter (operativer) Behandlung oder auch ohne eine solche gelegentlich zur Heilung gelangt, so findet sich der Streptococcus pyogenes auf der anderen Seite auch, und zwar ausserordentlich häufig, als der Vermittler schwerer allgemeiner, metastatischer, eitriger Processe (Pyaemie), welche gewöhnlich mit dem Tode endigen (cf. oben p. 149). So sehen wir bei der puerperalen Pyaemie den Streptococcus im Blute kreisen, die Nierengefässe embolisiren und dort metastatische Eiterungen veranlassen; wir sehen ihn schwere Gelenkentzündungen bewirken, schwere acute Endocarditis veranlassen u. s. f. Die Infectionspforte kann hierbei eine ganz verschiedene sein. Bei der puerperalen Pyaemie geschieht der Eintritt der Streptococcen durch die offenstehenden Uterusgefässe. In vielen Fällen (z. B. bei Scharlach, wo wir

---

[1]) E. Fraenkel und Sänger, Virch. Arch. Bd. 108. 1887.

sehr häufig „secundäre“ Infectionen durch Streptococcen auftreten sehen) dürfte die erkrankte (und dadurch wohl leichter durchgängige) Rachenschleimhaut als Infectionspforte fungiren.

Der Streptococcus pyogenes ist in seinem gesammten Verhalten in künstlichen Culturen und auch Thieren gegenüber durch nichts unterschieden von dem Streptococcus des Erysipels, den wir oben (p. 220) betrachteten. Er wird deshalb mit diesem jetzt ganz allgemein für identisch[1]) angesehen. Ein Photogramm des Streptococcus pyogenes bei 1000facher Vergrösserung zeigt Taf. III, Fig. 13.

Der Streptococcus pyogenes färbt sich (in Uebereinstimmung mit dem Streptococcus des Erysipels) auch nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.).

22. Die Bakterien der Pneumonie.

Die Aetiologie der Pneumonie ist noch keineswegs sicher festgestellt. Die ersten Bakterienbefunde bei dieser Krankheit wurden von Klebs (1875) erhoben[2]); dann folgte Eberth[3]); und Robert Koch[4]) war dann der Erste, welcher (1881) die in einem Falle von Pneumonie (nach Recurrens) in den Schnitten der Lunge und der Nieren aufgefundenen Bakterien photographisch fixirte. Friedländer[5]) wies dann in einer Reihe von Fällen croupöser Pneumonie in Schnitten des erkrankten Lungengewebes constant Coccen nach. In dem mit Hülfe der Pravaz'schen Spritze dem lebenden Pneumoniker entnommenen Lungensafte fanden dann Leyden und (eine Reihe von Monaten früher) der Verf. ebenfalls Mikrococcen. Auf Taf. XI, Fig. 65, gebe ich ein Photogramm desjenigen Präparates, welches ich damals (im Mai 1882) gewann.[6]) Friedländer hat später[7]) angegeben, dass ich damals zuerst die „Kapseln“ der Pneumoniecoccen gesehen und (in einer Zeichnung) abgebildet habe. Ich möchte es jedoch für

---

[1]) E. Fraenkel hat eine schlagend beweisende Illustration für diese Identität publicirt (Centr. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 25). Er cultivirte aus peritonitischem Eiter in zwei Fällen Streptococcen, die, auf das Kaninchenohr cutan verimpft, typisches Erysipel erzeugten.

[2]) Arch. f. exp. Path. Bd. 4.

[3]) Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. 28.

[4]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881.

[5]) Virch. Arch. Bd. 87.

[6]) Dieses Präparat habe ich im Verein für innere Medicin zu Berlin am 20. Nov. 1882 (Deutsche med. Wochenschr. 1883. p. 52) demonstrirt. Das Photogramm Taf. XI, Fig. 65, zeigt genau die damals demonstrirte Stelle.

[7]) Fortschr. d. Med. 1883. p. 719.

fraglich halten, ob die ungefärbten Räume, welche in diesem Präparate die Bakterien umgeben, für Bakterienhüllen, für Kapseln, angesehen werden dürfen; die Möglichkeit ist allerdings nicht direct abzuweisen.

Der Erste, welcher aus der pneumonischen Lunge Bakterien in Reincultur züchtete, war Friedländer. Friedländer bediente sich der Vortheile, welche der von Koch eingeführte feste Nährboden bietet, nur halb. Es wurden in seinen Culturversuchen keine Platten angelegt; überhaupt wurde keine Rücksicht darauf genommen, dass etwa verschiedene Bakterienarten in dem zu untersuchenden Materiale vorhanden sein könnten. Friedländer legte mit dem aus der kranken Lunge entnommenen Materiale directe Stichculturen in Gelatine an und erhielt auf diese Weise Culturen eines Organismus, den er zwar mit dem Namen „Pneumoniemikrococcus“ belegte, der aber, wie sich in der Folge gezeigt hat, nur ganz ausserordentlich selten bei der Pneumonie vorkommt.

Wie nämlich A. Fraenkel[1]) und Weichselbaum[2]) gezeigt haben, kommt der von Friedländer gezüchtete „Pneumoniemikrococcus“, welchen Weichselbaum seiner Form nach als „Bacillus pneumoniae“ bezeichnet hat, nur höchst selten bei der Pneumonie vor. Weichselbaum fand ihn in 83 Fällen von Pneumonie, in denen er Culturen anstellte, nur 6 Mal, während in der grössten Mehrzahl der Fälle (54 Mal) ein anderer Mikroorganismus gefunden wurde, den zuerst A. Fraenkel rein cultivirte, und den Weichselbaum als „Diplococcus pneumoniae“ bezeichnet. Aber auch der letztere stellt einen ganz constanten Befund nicht dar.

Es kommt übrigens bezüglich des Bakterienbefundes ganz darauf an, ob die Pneumonie eine genuine, primäre, oder ob sie eine accidentelle, secundäre ist. Während bei der ersteren in den allermeisten Fällen (wenn auch nicht constant) der Diplococcus pneumoniae gefunden wird, so trifft man bei den secundären Pneumonien ausser dem Diplococcus pneumoniae und ausser dem Bacillus pneumoniae unter Umständen auch den Streptococcus pyogenes, ja sogar den Staphylococcus pyogenes aureus an.

Ein einheitlicher Bakterienbefund existirt also bei der Pneumonie nicht.

Ausserdem ist auch die Rolle des am häufigsten gefundenen

---

[1]) Verh. d. 3. Congr. f. inn. Med. 1884. — Zeitschr. f. kl. Med. Bd. 10 u. 11.
[2]) Wiener med. Jahrbücher. 1886.

Organismus, des Diplococcus pneumoniae, mit dem Vorkommen bei der Pneumonie durchaus nicht erschöpft. Man hat ihn z. B. bei Meningitis cerebrospinalis epidemica (Foà und Bordoni-Uffreduzzi, Weichselbaum), bei primärer Nephritis (Mircoli), bei ulceröser Endocarditis (Weichselbaum) nachgewiesen, und es ist Weichselbaum auch gelungen, bei Kaninchen nach vorhergehender Verletzung der Herzklappen (cf. p. 223) durch intravenöse Einverleibung des Diplococcus pneumoniae Endocarditis experimentell hervorzurufen.

Der Diplococcus pneumoniae wird auch bei einzelnen ganz gesunden Menschen ganz constant in der Mundhöhle angetroffen; es giebt Menschen, deren Mundflüssigkeit, Kaninchen subcutan injicirt, die Thiere an derselben Septicaemie zu Grunde gehen lässt, die nach Injection virulenter Reincultur des Diplococcus pneumoniae (cf. p. 228) entsteht.

Aus dem Dargelegten geht hervor, dass von einer völligen Klarheit hinsichtlich der Entstehungsursache der Pneumonie keine Rede ist. Besonders fehlen auch überzeugende Thierversuche, welche die Pneumonie veranlassende Eigenschaft des einen oder des anderen Mikroorganismus darthun, noch völlig.

Der Diplococcus pneumoniae sowohl wie der Bacillus pneumoniae sind im Uebrigen für Thiere pathogen.

Wir wollen in Folgendem die Eigenschaften beider Organismen in Kürze darstellen.

a. Der Diplococcus pneumoniae.

Der Diplococcus pneumoniae (Pneumoniemikrococcus A. Fraenkel, Mikrococcus der Sputumsepticaemie, Diplococcus lanceolatus, lanzettförmiger Diplococcus, Meningococcus, Streptococcus lanceolatus Pasteuri) wird häufig in dem pneumonischen Lungensafte, ferner bei Affectionen, welche sich secundär an eine bestehende Pneumonie anschliessen (Pleuritis, Pericarditis, Peritonitis, Meningitis, Endocarditis etc.) angetroffen. Im pneumonischen Sputum findet er sich gewöhnlich; er kommt aber auch im normalen Sputum ganz gesunder Menschen vor.

Der Diplococcus pneumoniae ist vielleicht nicht eigentlich zu den Mikrococcen zu rechnen. Seine meist zu zweien zusammen auftretenden Individuen sind etwas in die Länge gezogen und an den Enden deutlich lanzettförmig zugespitzt (cf. das typische Photogramm Fig. 65 auf Taf. XI). Der Organismus ist unbeweglich. Im Gewebe liegend (in der pneumonischen Lunge des Menschen oder in den Or-

ganen von Versuchsthieren) zeigt sich der Diplococcus (resp. Bacillus) von einer deutlichen Kapsel (p. 225) umgeben. Einen Schnitt aus der pneumonischen Lunge des Menschen zeigt Fig. 66 auf Taf. XI. Man erkennt hier an sehr vielen Exemplaren des Coccus deutlich die Kapselbildung. (Die Darstellung dieser Kapseln im Schnitt gehört zu den allerschwersten mikroskopischen, besonders aber mikrophotographischen Aufgaben.) In künstlichen Culturen zeigt der Organismus keine Kapseln.

Der Diplococcus pneumoniae wächst auf den künstlichen Nährböden, aber nur bei höherer Temperatur. Unter 22 ° C. kommt ein Wachsthum nicht zu Stande. Am besten wächst er bei etwa 35 ° C. Die Nährböden müssen schwach alkalisch sein. Auf der Oberfläche von Agar und von Blutserum bildet der Diplococcus pneumoniae äusserst feine, wie aus einzelnen Thautröpfchen zusammengesetzt erscheinende Ueberzüge, welche an Erysipelcoccenculturen erinnern (cf. oben p. 220). Agarculturen sterben schon in wenigen Tagen ab, nachdem sie zunächst ihre pathogenen Eigenschaften für Thiere (siehe weiter unten) verloren haben. Etwas haltbarer sind Bouillonculturen.

Der Diplococcus pneumoniae ist für unsere Versuchsthiere, namentlich für Kaninchen, aber auch für Meerschweinchen und Mäuse, pathogen. Macht man einem Kaninchen mit einer frischen virulenten Bouilloncultur eine Injection unter die Haut, so geht das Thier in 1—2 Tagen an einer typischen Septicaemie (cf. oben p. 149) zu Grunde. Die Milz ist stark geschwollen.

Der Diplococcus pneumoniae färbt sich mit den gewöhnlichen wässerig-alcoholischen Farbstofflösungen; hier wird der Protoplasmakörper dunkel gefärbt, während die Kapsel nur eine ganz geringe Färbung annimmt. Der Organismus färbt sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.); bei der letzteren bleibt aber nur der Protoplasmakörper gefärbt, während sich die Kapsel vollständig entfärbt.

b. Der Bacillus pneumoniae.

Der Bacillus pneumoniae (Pneumoniemikrococcus [Pneumococcus] Friedländer) wird in seltenen Fällen bei der menschlichen Pneumonie gefunden, und zwar hier entweder allein oder mit anderen Mikroorganismen zusammen. Er ist auch bei anderen Affectionen (bei Schnupfen im Nasensecret, bei Otitis media acuta) gefunden worden.

Der Bacillus pneumoniae unterscheidet sich sofort durch seine

erheblichere Grösse von dem Diplococcus pneumoniae. Man vergleiche hierzu die beiden Photogramme Fig. 65 (Taf. XI) und Fig. 67 (Taf. XII), die beide bei 1000 facher Vergrösserung aufgenommen sind. Fig. 67 entstammt einem Präparate, welches von dem Pleurasafte einer nach intrapleuraler Infection mit dem Bacillus pneumoniae gestorbenen Maus hergestellt wurde [1]). Man sieht an dem Bilde sehr schön die ausgeprägte Kapselbildung bei diesem Organismus. Uebrigens werden die Kapseln auch hier (wie bei dem Diplococcus pneumoniae) nur innerhalb des thierischen (resp. menschlichen) Organismus gebildet. Die Länge des Bacillus ist verschieden. Eigenbewegung ist nicht vorhanden.

Der Bacillus pneumoniae wächst auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden, und zwar sowohl bei Zimmertemperatur wie bei Brüttemperatur.

Auf der Gelatineplatte bilden sich weisse Colonien, welche, an die Oberfläche des Nährbodens gelangend, sich als dicke, halbkugelige, porcellanartig glänzende weisse Knöpfchen über der Gelatine erheben. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. In der Stichcultur kommt in der gesammten Ausdehnung des Impfstiches Wachsthum zu Stande; es bildet sich eine weisse Wucherung, die sich auf der Oberfläche (ähnlich wie bei der Plattencultur) besonders kräftig entwickelt und hier als dicker, halbkugeliger, nagelkopfähnlicher („Nagelcultur" Friedländer), glänzend weisser Belag erscheint. Alte Gelatineculturen zeigen die Gelatine etwas braun gefärbt.

Auf der Agaroberfläche bildet sich ein weisslicher Belag. Auf Kartoffeln entwickeln sich gelblich-weisse Auflagerungen, in denen, namentlich bei Brüttemperatur, Gasblasenbildung auftritt.

Sporenbildung ist nicht beobachtet.

Die Culturen des Bacillus pneumoniae sind viel dauerhafter als die des Diplococcus pneumoniae. Noch nach Monaten zeigen sie sich lebensfähig.

Der Bacillus pneumoniae ist für Mäuse, ferner auch für Hunde, weniger für Meerschweinchen, pathogen. Für Kaninchen ist er (zum Unterschiede von dem Diplococcus pneumoniae) nicht pathogen. Brachte Friedländer empfänglichen Thieren die Cultur intrapleural oder intraabdominell bei, oder liess er die Thiere verstäubte Cultur inhaliren, so gingen sie zu Grunde. Es zeigte sich starke Vermehrung der eingeführten Bakterien in der Pleurahöhle resp. in der Bauch-

---

[1]) Das Präparat stammt aus dem Januar 1885. Die Maus war von Friedländer persönlich mit einer seiner Originalculturen inficirt worden.

höhle; ferner waren die Organismen im Blute und in den inneren Organen zu finden. In einzelnen Fällen bildeten sich auch pneumonische Processe aus.

Der Bacillus pneumoniae färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.). Im Uebrigen verhält er sich hinsichtlich der Färbbarkeit seines Protoplasmakörpers und seiner Kapsel wie der Diplococcus pneumoniae (cf. p. 228).

23. Der Bacillus des Rhinoskleroms.

Das „Rhinosclerom" wurde zuerst von Hebra (1870) als selbständiges Krankheitsbild beschrieben; v. Frisch wies (1882) zuerst das constante Vorkommen von Bacillen in den rhinosclerotischen Partien nach. Cornil und Alvarez entdeckten (1885) Kapselbildung an diesen Bacillen.

Paltauf und v. Eiselsberg[1]) züchteten die „Rhinosclerombacillen" in Reincultur. Dieselben sind sowohl in dem Culturverhalten wie in dem Verhalten gegen Versuchsthiere in dem Friedländer'schen Bacillus pneumoniae sehr ähnlich.[2]) Nur die Virulenz erschien bei den Rhinosclerombakterien etwas geringer als bei den Friedländer'schen. Rhinosclerom experimentell damit zu erzeugen gelang nicht.

24. Der R. Pfeiffer'sche Kapselbacillus.

R. Pfeiffer[3]) fand in der Bauchhöhle eines spontan gestorbenen Meerschweinchens ein zähes eiterartiges Exsudat, welches sich mikroskopisch aber nicht aus Eiterzellen bestehend erwies, sondern die Reincultur eines Bacillus darstellte, der sich auch in dem Blute der Leiche vorfand. Es ist dies ein plumper Bacillus mit abgerundeten Enden, der schöne ovale Kapseln besitzt („Bacillus capsulatus"). Der Bacillus ist ohne Eigenbewegung.

Er wächst auf den gemeinen Nährböden, bei Brüttemperatur besser als bei Zimmertemperatur, bildet bei dem Einstich in Gelatine glänzend weisse „Nagelculturen" wie der Friedländer'sche Bacillus (cf. p. 229).

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1886. No. 19. u. 20.

[2]) Die Rhinosclerombacillen sollen sich im Gegensatz zu den Friedländer'schen Organismen nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.) färben lassen (Zagari, Dittrich, V. Babes).

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

Der Bacillus ist facultativ anaëorb, bildet innerhalb der Gelatine (geruchloses) Gas. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Auf der Agaroberfläche bilden sich dicke, saftige, weisse, fadenziehende Ueberzüge, auf der Kartoffel gelblich-weisse, fadenziehende Beläge.

Sporenbildung wurde nicht constatirt.

Für weisse Mäuse und Hausmäuse ist der Bacillus sehr pathogen. Nach subcutaner Impfung sterben die Thiere innerhalb von 2 bis 3 Tagen. Die Milz der gestorbenen Thiere ist stark geschwollen. Ueberall im Blute und in den Organen finden sich die Bacillen, mit schönen Kapseln versehen. Meerschweinchen und Tauben sowie Kaninchen sind ebenfalls empfänglich für die Infection. Meerschweinchen und Tauben lassen sich aber nur vom Peritoneum aus, Kaninchen nur durch intravenöse Einverleibung grösserer Mengen der Cultur inficiren. Die Körper der gestorbenen Thiere verfallen rascher postmortaler Zersetzung. Das Blut und die Gewebssäfte sind fadenziehend.

Der Bacillus färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.), verhält sich sonst hinsichtlich der Färbbarkeit seines Protoplasmakörpers und seiner Kapsel wie der Diplococcus pneumoniae (p. 228).

25. Der Micrococcus tetragenus.

Der Micrococcus tetragenus wurde von R. Koch[1]) in einer phthisischen Lungencaverne entdeckt. Gaffky[2]) studirte ihn näher und constatirte seine pathogenen Eigenschaften für manche Versuchsthiere. Der Organismus wurde dann von Biondi[3]) auch in normalem menschlichen Speichel vorgefunden.

Der Coccus bietet, aus dem thierischen Organismus entnommen, die Eigenthümlichkeit dar, dass er meist in Gruppirungen zu je vier Exemplaren auftritt, die von einer gemeinsamen Hülle, Kapsel, umgeben sind. In Figur 64 auf Taf. XI, welche nach einem Ausstrichpräparate der Milz der an der Tetragenus-Infection gestorbenen Maus aufgenommen ist, sieht man diese Gruppirung und auch die Hüllenbildung deutlich.

Der Micrococcus tetragenus gedeiht, am besten bei Sauerstoffanwesenheit, auf den gewöhnlichen Nährböden. Auf der Gelatineplatte werden weisse, glänzende, über die Oberfläche kuppenförmig

---

1) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 33.
2) Langenb. Arch. Bd. 28.
3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887.

prominirende Colonien gebildet; die Gelatinestichcultur entwickelt sich sowohl längs des Impfstiches wie auf der Oberfläche; es bilden sich weisse, auf der Oberfläche glänzende Wucherungen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Auf Agar entstehen weisse Ueberzüge; auf der Kartoffel bilden sich schleimige, fadenziehende Beläge.

Der Micrococcus tetragenus ist für weisse Mäuse und Meerschweinchen pathogen; graue Mäuse und Feldmäuse verhalten sich fast stets immun, Kaninchen und Hunde sind nicht zu inficiren. Die empfänglichen Thiere erkranken nach subcutaner Einverleibung und gehen (Mäuse nach 3—6—8 Tagen) an einer Septicaemie (cf. p. 149) zu Grunde. Ob der Micrococcus tetragenus in der menschlichen Pathologie, speciell vielleicht als Eiterungserreger, eine Rolle spielt, ist noch nicht festgestellt.

Der Micrococcus tetragenus färbt sich nach der Gram'-schen Methode (p. 87 ff.). Im Uebrigen verhält er sich hinsichtlich der Färbbarkeit seines Protoplasmakörpers und seiner Kapsel wie der Diplococcus pneumoniae (cf. p. 228).

26. Die Spirochaete des Recurrensfiebers.

Bei dem Rückfallfieber (Typhus recurrens) wurde durch Obermeier[1]) (1873) das constante Vorkommen sehr beweglicher Spirillen (Spirochaete Obermeieri) im Blute festgestellt.. Die Spirillen (cf. Taf. XII, Fig. 68), welche ziemlich grosse Gebilde mit spitz zulaufenden Enden sind, finden sich nur während der Fieberanfälle, nicht während der Apyrexie. Nur ein einziger Fall ist (von Naunyn[2]) beschrieben, in welchem sich auch während der fieberfreien Stadien Spirillen im Blute vorfanden (wenn auch spärlicher als während des Fiebers).

Die Spirillen des Rückfallfiebers künstlich zu züchten ist bis jetzt nicht gelungen. Sporenbildung ist nicht bekannt.

Von Versuchsthieren hat sich nur der Affe für die Infection mit Febris recurrens zugängig gezeigt. Der Affe erkrankt nach Einimpfung spirillenhaltigen Recurrensblutes an typischer Recurrens (Koch, Carter). Auch bei Menschen hat sich auf dieselbe Weise Recurrens künstlich erzeugen lassen.

---

[1]) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1873. No. 10. — Berl. klin. Wochenschr. 1873. No. 35.

[2]) Mitth. a. d. med. Klinik zu Königsberg i. Pr. 1888.

Das Recurrensspirillum zeigt sich der Färbung mit den gebräuchlichen basischen Anilinfarben zugänglich. Nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.) färbt es sich nicht. Eine fast isolirte Färbung der Recurrensspirillen in Blutpräparaten erhält man mit Hülfe einer speciell für diagnostische Zwecke zu empfehlenden Methode, die der Verf.[1]) 1885 angegeben hat, und die bereits oben (p. 63) besprochen wurde.

27. Der Actinomyces.

Der Actinomyces (Actinomyces bovis s. hominis, Strahlenpilz)[2]) wurde (beim Menschen) im Jahre 1845 in Kiel von B. v. Langenbeck entdeckt. Die Entdeckung wurde zugleich mit den Langenbeck'schen Zeichnungen erst im Jahre 1878 durch James Israël[3]) publicirt, dem das Verdienst gebührt, den Strahlenpilz zuerst als einen selbständigen, für den Menschen pathogenen Organismus erkannt zu haben.

Der Actinomyces ist beim Rind zu Hause. Beim Rind wurde der Pilz zuerst (1877) von Bollinger[4]) gesehen. Der Pilz giebt hier Veranlassung zur Entstehung in der Kiefergegend sitzender Geschwülste, welche die Tendenz haben zu abscediren. Auf dem Durchschnitt zeigen diese Geschwülste grössere oder kleinere Hohlräume, in welchen kleine gelbe Körner enthaltender Eiter vorhanden ist. Diese Körner zeigen mikroskopisch gewöhnlich eine strahlige, drusige Structur („Strahlenpilz"). Damit ist aber die mikroskopische Erscheinungsweise des Actinomyces nicht erschöpft. Man findet auch fädige, an Bacillenfäden erinnernde Bildungen, ferner „Coccenhaufen"; kurz: ein sehr pleomorphes Bild. Taf. XII, Fig. 69 und 70, zeigen solche verschiedenen Bilder aus einer und derselben Geschwulst. Ob alle diese Dinge genetisch zusammengehören, müssen erst noch weitere Untersuchungen lehren.

Der Actinomyces ist auf den Menschen leicht übertragbar. Er siedelt sich unter Anderem gern in hohlen Zähnen an, kann dann zur Entstehung von abscedirenden Kiefergeschwülsten Veranlassung geben, aber auch zu Actinomykose innerer Organe (Lunge, Pleura, Peritoneum, Leber, Nieren, Darm, Herz, Gehirn) führen. Die Er-

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1885. p. 755.

[2]) Die Bezeichnung „Actinomyces" stammt von dem Münchener Botaniker Harz.

[3]) Virch. Arch. Bd. 74. 1878.

[4]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1877. No. 27.

krankung der Organe kann eine primäre und eine metastatische sein. Sie führt häufig zum Tode.

Culturversuche mit dem Actinomyces sind von verschiedenen Seiten unternommen worden. Speciell gelang es neuerdings J. Israël und M. Wolff[1]) Culturen des Pilzes auf Agar (unter Sauerstoffabschluss) und innerhalb von rohen Hühnereiern zu erhalten, dieselben in verschiedenen Generationen weiter zu züchten und durch Uebertragung der so erhaltenen Culturen Kaninchen intraperitoneal erfolgreich mit Actinomykose zu inficiren.

Ob der Actinomyces zu den Bakterien zu rechnen ist, ist noch nicht mit Sicherheit ausgemacht.

Der Actinomyces färbt sich sehr gut nach der Gram'schen Methode resp. nach der vom Verf. angegebenen Modification dieser Methode (p. 87 ff.).

Mit dem vorstehend besprochenen Actinomyces bovis s. hominis nicht identisch ist ein eigenthümlicher Parasit, welcher in ähnlichen strahligen Formen auftritt wie der genannte Actinomyces, welcher aber ausschliesslich im Schweinemuskel gefunden wird. Derselbe wurde 1884 von Duncker[2]) entdeckt. Er hat den Namen „Actinomyces musculorum suis" erhalten. Es ist aber bis jetzt noch nicht mit Sicherheit entschieden, ob dieser Parasit in irgend welchen verwandtschaftlichen Beziehungen zu dem Actinomyces bovis s. hominis steht.

---

[1]) 19. Congr. d. Deutschen Gesellsch. f. Chirurgie. Berlin, April 1890.
[2]) Zeitschr. f. Mikrosk. u. Fleischbeschau. 1884. No. 3.

Anhang.

Ausser den Bakterien treten auch anderen Mikroorganismengruppen angehörige Gebilde, sowohl pflanzliche wie thierische, als Krankheitserreger auf. Unter diesen wollen wir einestheils die pathogenen Schimmel- oder Fadenpilze, anderntheils die pathogenen Protozoën noch einer kurzen Betrachtung unterwerfen.

Die pathogenen Schimmelpilze.

Was die Schimmel- oder Fadenpilze anlangt, so kennt man bereits eine Anzahl Arten, welche das Vermögen haben, sich innerhalb des thierischen Körpers und auf Kosten desselben zu vermehren. Hierher gehören vor Allem mehrere Aspergillus- und Mucor-Arten, ferner einige Arten aus der Gruppe der Oidien.

Botanisch unterscheiden sich, wie hier kurz bemerkt sein mag, die genannten Pilzgattungen durch die Art und Weise der Fructification (Sporenbildung). Während nämlich bei den Mucorarten der sich aus dem Mycelgeflecht erhebende Fruchtträger (die Fruchthyphe) eine besondere Kapsel, ein „Sporangium", trägt, in welchem sich die Sporen (Conidien) entwickeln, bildet sich bei den Aspergillusarten an dem Ende des Fruchtträgers eine kolbige Verdickung, auf deren Oberfläche durch Vermittelung kleiner Zwischenfruchtträger (Sterigmen) die Sporenreihen befestigt sind; bei den Oidiumarten werden die Sporen direct an dem Fruchtträger (der Fruchthyphe) ohne Dazwischentreten eines besonderen Fruchtkopfes abgegliedert.

Unter den zu den Gattungen Aspergillus und Mucor gehörenden Pilzen sind für Thiere pathogen vor Allem der Aspergillus fumigatus, dann der Aspergillus flavescens, ferner der Mucor corymbifer und der Mucor rhizopodiformis. Die intravenöse Injection einer Sporenaufschwemmung einer jeden dieser Arten hat, wenn nicht zu wenig Sporen eingebracht wurden, bei Kaninchen Erkrankung und Tod in einigen Tagen zur Folge. Man findet dann

in den Organen, besonders in den Nieren, vielfache Herde von Pilzmycelien, die sich aus den Sporen entwickelt haben. Ebenso kann bei Vögeln durch Inhalation von Sporen, speciell des Aspergillus fumigatus, eine pneumonische Erkrankung (Pneumonomycosis aspergillina) entstehen. Beim Menschen sind Aspergilluswucherungen speciell im äusseren Gehörgange, in einem Falle auch in der Hornhaut, beobachtet worden.

Alle die genannten pathogenen Schimmelpilze lassen sich künstlich züchten; sie gedeihen, ihren für Warmblüter pathogenen Eigenschaften entsprechend (cf. p. 20), am besten bei Körpertemperatur. Als Nährboden eignet sich besonders sterilisirter Brotbrei (cf. p. 108).

Speciell für den Menschen sind noch einige (zu den Oidien gehörende) Schimmelpilze als Dermatophyten, als Hautpilze, von Bedeutung, nämlich der Favuspilz, der Pilz des Herpes tonsurans und der Pilz der Pityriasis versicolor. Vielleicht gehört auch der Soorpilz zu den Oidien.

Der Favuspilz (Achorion Schönleinii) wurde 1839 von Schönlein entdeckt. Er findet sich in den bekannten Favusborken.

Zur mikroskopischen Untersuchung entnimmt man einer solchen Borke ein kleines Stück, bringt es auf den Objectträger in ein Tröpfchen Glycerin, zerzupft es mit zwei Nadeln in kleinste Partikelchen und kann dann nach dem Auflegen eines Deckglases die Untersuchung vornehmen, die am vortheilhaftesten mit starkem Trockensystem geschieht. Man constatirt dann kleinere und grössere Hyphen (Pilzfäden) und zahlreiche Sporen (eiförmige Gebilde). Will man das Präparat conserviren, so umzieht man das Deckglas in bekannter Weise mit einem Ring von Asphaltlack. — Eine Färbung ist bei der Untersuchung des Favuspilzes (ebenso wie bei den übrigen Fadenpilzen) ganz unnöthig. Man untersucht diese Organismen am besten ungefärbt.

Der Favuspilz ist ein specifischer Pilz, welcher sich künstlich züchten lässt, und dessen Biologie besonders von Grawitz und von Quincke studirt worden ist. Quincke ist übrigens der Ansicht, dass es mehrere Pilze giebt, welche bei der Bildung des menschlichen Favus betheiligt sind.

Auf der Agaroberfläche bildet der Favuspilz schneeweisse, von unten her gesehen gelb erscheinende, Wucherungen. Gelatine wird langsam verflüssigt. Die Züchtung geschieht am besten bei 30° C.

Der Herpes tonsurans-Pilz (Trichophyton tonsurans) wurde 1845 von Gruby und Malmsten entdeckt. Sein mikroskopisches Aussehen gleicht dem Favuspilze sehr. Ebenso haben die künstlichen Culturen beider Pilze grosse Aehnlichkeiten. Die Gelatine wird verflüssigt. Um die Erforschung der Biologie haben sich ebenfalls Grawitz und Quincke verdient gemacht. Auf Taf. XII, Fig 71, ist eine Stelle aus einer fructificirenden (d. h. sporenbildenden) Agarcultur des Herpes tonsurans-Pilzes bei 240facher Vergrösserung dargestellt. [1])

Der Pilz der Pityriasis versicolor (Microsporon furfur) wurde 1846 von Eichstedt entdeckt. Er ist auf festen Nährböden noch nicht gezüchtet worden.

Der Soorpilz (Oidium albicans) wurde von Robin entdeckt. Mit der Erforschung seiner Biologie haben sich namentlich Grawitz und Plaut beschäftigt. Plaut hält den Pilz, speciell auch auf Grund von vergleichenden Thierversuchen, mit Monilia candida Bonorden für identisch. Der Soorpilz lässt sich künstlich reincultiviren; er verflüssigt die Gelatine nicht. Klemperer hat gezeigt, dass durch intravenöse Einverleibung der Reincultur in den Kaninchenkörper allgemeine Soormykose hervorgerufen wird.

Die pathogenen Protozoën.

In den letzten Jahren hat man einer besonderen Gruppe von Organismen grössere Aufmerksamkeit zugewendet, welche allem Anscheine nach eine verbreitete Rolle in der Pathologie des Menschen und der Thiere spielen: den Protozoën, der niedersten Gruppe der Thierwelt. Zu den Protozoën gehören unter Anderem eine ganze Anzahl von morphologisch mehr oder weniger eingehend studirten Gebilden, welche man in dem Blute der verschiedensten Wirbelthiere, ferner in den Muskelzellen, ja sogar in den Kernen des Darm- und Nierenepithels schmarotzend angetroffen hat. Scheinen diese Gebilde zum Theil eine erhebliche pathogene Bedeutung nicht zu haben, so giebt es andererseits Protozoën, denen sehr beträchtliche pathogene Eigenschaften zukommen. Die für die menschliche Pathologie wich-

[1]) Das Material stammt aus der Klinik des Herrn Priv.-Doc. Dr. Lassar; die Cultur wurde auch in dem Laboratorium des Herrn Dr. Lassar gezüchtet.

tigsten und zugleich die bestgekannten pathogenen Protozoën sind diejenigen, welche bei den Malariafiebern aufgefunden worden sind, und die höchst wahrscheinlich als die Ursache dieser Fieber anzusehen sind. Diese wollen wir einer kurzen Betrachtung unterziehen.

Im Jahre 1882 hat zuerst Laveran (in Algier) im Blute Malariakranker eigenthümliche Gebilde constatirt, die dann namentlich von Marchiafava und Celli in Rom (1883) einem genaueren Studium unterzogen, in dem Malariablute constant aufgefunden, bei anderen Krankheiten vermisst wurden, und die von den letztgenannten Autoren 1885 mit dem Namen „Plasmodium Malariae“ belegt wurden. Dann hat sich um die weitere Erforschung dieser Gebilde und besonders um die Aufdeckung ihrer näheren Beziehungen zu dem Verlaufe der Malariafieber Golgi in Pavia (1886) grosse Verdienste erworben.

Wenn man Blut des Intermittenskranken untersucht, am besten zu Beginn des Fieberanfalls, so findet man innerhalb der rothen Blutkörperchen, und zwar bei einer mehr oder weniger grossen Anzahl derselben, kleine, rundliche, sich von der Substanz des Blutkörperchens wenig abhebende Gebilde, die mehr oder weniger lebhafte amöboide Bewegungen ausführen. Im Trockenpräparate lassen sich diese Gebilde mit Methylenblau färben und dadurch deutlicher machen. Nimmt man etwas später wiederum eine Blutuntersuchung vor, so sieht man diese kleinen endoglobulären Gebilde, die Plasmodien, etwas vergrössert, gewachsen, und in ihrem Innern kleinste Körnchen schwarzen Pigmentes angehäuft. Zugleich erscheint das einschliessende Blutkörperchen blasser geworden. „Das Hämoglobin ist durch das parasitäre Gebilde in schwarzes Melanin umgewandelt worden.“ Diese Pigment- (Melanin-) Bildung ist die Ursache der bei der Malaria zu beobachtenden Melanaemie. Weitere Untersuchungen zeigen dann, dass das Plasmodium an Grösse weiter zunimmt, sich mehr mit Pigment belädt, und dass dabei das Blutkörperchen mehr und mehr entfärbt, vernichtet wird.

Die letzteren Vorgänge spielen sich, wie Golgi gezeigt hat, besonders in der Zeit zwischen je zwei Fieberanfällen ab. Kurz vor dem Beginne des nächsten Anfalles beobachtet man dann eine höchst interessante Erscheinung an den Plasmodien, die als eine Art Sporulation, Maturation aufgefasst wird. Diese Erscheinung tritt gewöhnlich so auf, dass, während sich das Pigment in die centralen Theile des Plasmodiums zusammengezogen hat, der übrige Theil, der Randtheil des Plasmodiums, in eine grössere Anzahl (6 bis 10 oder

mehr) sectorenförmige Theile gespalten wird, die durch radiär gestellte Grenzen von einander getrennt sind. Es kommt so zur Bildung sehr zierlicher rosettenförmiger Figuren. Auf Taf. XII, Fig. 72, ist ein Schnitt durch das Gehirn eines letalen Malariafalles dargestellt.[1]) Man sieht hier mehrere Gefässe, innerhalb deren in Theilung begriffene Plasmodien zu sehen sind. Namentlich die etwas links von der Mitte des Bildes liegende Rosette zeigt ziemlich deutlich die in Rede stehende Erscheinung, die auch als „Segmentation" bezeichnet wird.

Nach Golgi kann man aus dem Befunde solcher segmentirter Plasmodien im Blute mit Sicherheit auf den unmittelbar bevorstehenden Anfall schliessen. Untersucht man nämlich etwas später das Blut wieder, so findet man diese segmentirten Formen nicht mehr. Die aus der Segmentation des Plasmodiums hervorgegangenen, den Rand der Rosette bildenden kleinen Körperchen sind, nachdem sie runde Gestalt angenommen haben, frei geworden. Man findet sie nun z. Th. frei im Blute, z. Th. aber sind sie schon wieder in neue Blutkörperchen eingedrungen, um dort wieder zu wachsen, Pigment zu bilden, sich später von Neuem zu theilen etc. Man hat also in der Segmentation die Bildung junger Plasmodien zu erblicken. Das Freiwerden derselben und das massenhafte Befallenwerden rother Blutkörperchen seitens derselben ist zeitlich mit dem Beginne des neuen Fieberanfalles verknüpft.

Golgi hat es wahrscheinlich gemacht, dass es zwei verschiedene Arten von Malariaplasmodien giebt; die einen sind die der Febris tertiana, die anderen die der Febris quartana. Die ersteren vollenden ihren (regelmässigen) Entwickelungs-Cyclus in zwei Tagen, die letzteren in drei Tagen. Quotidianfieber kommen durch combinirte Infection mit verschiedenen Plasmodiengenerationen zu Stande. Während die eine Generation heute in das Stadium der Segmentation tritt, bildet sich die Segmentation bei der anderen Generation erst morgen aus.

Diese, durch einen regelmässigen Entwickelungscyclus ausgezeichneten Plasmodien reagiren sofort auf Chiningaben. Das Chinin lässt die Plasmodien spurlos aus dem Blute verschwinden. Klinisch sind die von Plasmodien mit regelmässigem Entwickelungscyclus begleiteten Fieber durch den typischen Verlauf, den regelmässigen Eintritt der Anfälle, die zwischen den Anfällen eintretende

---

[1]) Das Präparat verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. E. Marchiafava in Rom.

wirkliche Intermission und das prompte Reagiren auf Chinin characterisirt. Diese Fälle werden auch fast stets zur Heilung gebracht. Die Frühlingsfieber in Rom tragen meist diesen gutartigen Character.

Es giebt aber andere Fieber, atypische, perniciöse Fieber (Sommer- und Herbstfieber Rom's), bei denen die Anfälle nicht regelmässig kommen, bei denen die Temperatur keine Intermissionen, sondern nur unregelmässige Remissionen macht, die gar nicht oder schlecht auf Chinin reagiren, und die häufig zu der gefürchteten Malariacachexie führen. Hier ist auch der Plasmodienbefund ein anderer. Man findet zwar auch die oben genannten Formen, aber ausserdem sichelförmige, halbmondförmige sowie ovale Körperchen, deren Naturgeschichte noch wenig bekannt ist.

Auch geisseltragende Formen finden sich bei den Malariafiebern im Blute.

Die künstliche Züchtung der Malariaplasmodien ist bisher nicht gelungen. Durch intravenöse Einverleibung von Aderlassblut des Malariakranken in den Körper des gesunden Menschen haben zuerst Marchiafava und Celli die Krankheit zu übertragen vermocht (cf. p. 147). Ist das letztere Experiment für die specifische pathogene Bedeutung der Plasmodien natürlich durchaus nicht beweisend, so ist andererseits jedoch damit nachgewiesen, dass der Erreger der Malaria im Blute des Kranken vorhanden ist. Nimmt man nun die Thatsache dazu, dass in diesem Blute mikroskopisch constant Gebilde zu finden sind, an denen man einen Entwickelungscyclus verfolgen kann, die also als selbständige Organismen aufgefasst werden müssen, berücksichtigt man andererseits die Thatsache, dass sich diese Gebilde ausschliesslich bei der Malaria, sonst aber bei keiner anderen Krankheit vorfinden, so ist der Schluss kaum abzuweisen, dass wir es hier mit parasitären Organismen zu thun haben, die der Malaria eigenthümlich sind, d. h. dass wir in den Plasmodien des Malariablutes die wirklichen Erreger der Malariafieber vor uns haben.

C. Saprophytische
(nicht pathogene)
Bakterienarten.

In Folgendem sollen einige der bekannteren und wichtigeren saprophytischen Bakterienarten kurz besprochen werden. Die Gesichtspunkte, welche uns bei der Auswahl aus der sehr grossen Zahl der überhaupt bekannten und beschriebenen Arten zu leiten haben, sind etwa folgende: Es werden solche Arten zu berücksichtigen sein, die sehr verbreitet in der Natur vorkommen, die uns eventuell auch häufig als spontane Verunreinigungen unter die Culturen gerathen, ferner solche, die häufiger vorkommende specifische Gährungen veranlassen, und solche, die in unserem eigenen Körper constant als Schmarotzer gefunden werden. Sodann sind auch solche Arten zu betrachten, welche, ohne specifische Gährungen zu veranlassen, durch besonders auffallende sonstige Functionen (Farbstoffbildung, Fluorescenz, Phosphorescenz) ausgezeichnet sind, oder die durch ihre Form auffallen.

1. Der Kartoffelbacillus[1]) (Bacillus mesentericus vulgatus). Auf gekochten Kartoffelscheiben entstehen häufig spontan Bacillencolonien. Dieselben treten gewöhnlich in Form eines kleinen nassen Fleckes am Rande der Kartoffel auf, breiten sich dann schnell über die Kartoffelfläche aus und bilden hier eine schleierartig gefaltete Membran, welche, wenn man Theile von ihr mit dem Platindraht abzunehmen versucht, sich aus einem zähen fadenziehenden Schleim zusammengesetzt erweist. Die Colonien gehen hervor aus Sporen, welche bei der Zubereitung der Kartoffel, dem Sterilisiren und Kochen, nicht getödtet wurden (cf. p. 119).

Der Bacillus bildet grössere Stäbchen, die einzeln, zu zweien oder in kleinen Verbänden auftreten. Der Bacillus ist eigenbeweglich; er trägt an seinen Enden Geisselfäden. Der Bacillus wächst auf den gewöhnlichen Nährböden bei Sauerstoffanwesenheit. Er wächst bei Zimmer- sowohl wie bei Brüttemperatur. Er bildet mittelständige Sporen. Die Gelatine wird schnell verflüssigt. Auf der Platte entstehen kreisrunde Colonien. Auf der

[1]) Eine ganze Reihe von Bacillenarten trägt den Namen „Kartoffelbacillus". Hier soll nur der als „Kartoffelbacillus" schlechthin bezeichnete Bacillus, die am häufigsten vorkommende Art, beschrieben werden (cf. auch oben p. 25).

Agaroberfläche bildet der Bacillus einen dicken, runzeligen, mattweissen Belag (C. Fraenkel).

2. Der Heubacillus (Bacillus subtilis Ehrenberg) ist ausserordentlich verbreitet in der Natur. Er kommt in der Luft, im Staub, speciell im Heustaub, im Boden, in Faeces etc. vor. An diesem Organismus entdeckte F. Cohn die Sporenbildung bei den Bacillen. Der Bacillus bildet grosse Stäbchen, ähnlich den Milzbrandbacillen, aber nicht mit scharf abgeschnittenen, sondern abgerundeten, abgestutzten Enden. Der Bacillus ist ferner zum Unterschiede von dem Milzbrandbacillus eigenbeweglich. An den Enden wies Koch je eine starke, mit 1—2 grossen Krümmungen versehene Geissel[1]) nach. Der Bacillus wächst auf den gewöhnlichen Nährböden bei Sauerstoffanwesenheit. Er gedeiht sowohl bei Zimmer- wie bei Brüttemperatur. Auf der Gelatineplatte zeigen sich die Heubacillen in ganz jungen Colonien zu längeren Fäden ausgewachsen. Sobald sie sich aber weiter entwickeln, was unter schneller Verflüssigung der Gelatine stattfindet, dann sieht man sie nur in Form von lebhaft beweglichen Stäbchen den Innenraum der Colonie erfüllen und am Rande derselben in ganz regelmässigen, senkrecht gegen die Peripherie gerichteten Massen sich in die noch feste Gelatine einbohren, so dass die Colonie so aussieht, als sei sie von einem Strahlenkranze umgeben (Koch). In Gelatinestichculturen kommt es nach eingetretener Verflüssigung der Gelatine zur Bildung einer oberflächlichen weissen Kahmhaut. Auf Kartoffeln bilden die Heubacillen sehr kräftige Culturen, die einen weisslichen, rahmartigen Ueberzug darstellen (Koch). Auf Agar bilden sich steife, leicht ablösliche, runzelige und faltige Ueberzüge, dem Aussehen nach dem Wachsthum des Kartoffelbacillus auf Kartoffeln (p. 243) vergleichbar. (Eisenberg.) Der Bacillus bildet endogene Sporen von 1,2 μ Länge und 0,6 μ Breite, welche ausserordentlich resistent sind. Bei der Keimung verlässt das Keimstäbchen die Spore in der Mitte ihrer Längsseite durch einen sich in der Sporenmembran bildenden Riss und tritt in zu der Längsrichtung der Spore senkrechter Richtung aus (Prazmowsky).

3. Der wurzelförmige Bacillus (Wurzelbacillus, Bacillus mycoides, Erdebacillus) wird fast in jeder Bodenprobe angetroffen, die man in Gelatine einsäet.

---

[1]) Betreffs der Färbung der Geisseln des Heubacillus cf. oben p. 66, Anm. 1.

Er bildet grosse Stäbchen, etwas dicker als Milzbrandbacillen, die dadurch ausgezeichnet sind, dass sie auf der Gelatine- (und Agar-) Platte Colonien bilden, die wie ein weitausgreifendes, vielfach verschlungenes Wurzelgeflecht aussehen (Koch). Auf Taf. IV, Fig. 22, sieht man dies Wurzelgeflecht in natürlicher Grösse auf einer Gelatineplatte. Fig. 24 auf derselben Tafel zeigt dasselbe auf einer Agarplatte (Strichcultur). Auf Taf. I, Fig. 4, ist eine Stelle aus einem Klatschpräparat von einem solchen Geflechte von der Gelatineplatte bei 1000facher Vergrösserung dargestellt. Der Bacillus ist eigenbeweglich; er wächst auf den gewöhnlichen Nährböden bei Sauerstoffanwesenheit. In Gelatinestichculturen geht, entsprechend dem Wachsthum auf der Platte, zunächst die Bildung eines zierlichen Geflechtwerks vor sich, welches von allen Theilen des Impfstiches in die Gelatine hineinwächst. Die Gelatine wird dann schnell verflüssigt. Auf Kartoffeln bildet sich ein weisslicher, auf die Impfstelle beschränkter Belag (Eisenberg). Der Bacillus bildet endogene Sporen.

4. Der Bacillus Megaterium de Bary. Derselbe wurde zuerst auf gekochten Kohlblättern gefunden. Er stellt ein grosses, 2,5 μ dickes, leicht bogig gekrümmtes, wenig lebhaft eigenbewegliches Stäbchen dar, welches endogene Sporen bildet. Die Eigenbewegung wird vermittelt durch 4 bis 8 seitlich stehende Geisseln (Messea). Die Sporenbildung und Sporenkeimung hat de Bary an diesem Bacillus ganz besonders eingehend studirt: Bei der Sporenbildung tritt meist dicht an einer Endfläche in dem Protoplasma ein kleiner, rundlicher, stark lichtbrechender Körper auf. Dieser nimmt an Volumen zu, während die ihn umgebende Protoplasmamasse successive schwindet. Nach wenigen Stunden (bei 20°) ist er herangewachsen zu einem länglich cylindrischen Körper, der stark lichtbrechenden, bläulich glänzenden Spore. Bei der Sporenkeimung verschwindet zunächst, während die Spore an Volumen zunimmt, ihr starker Glanz. Hat die Spore die normale Stäbchenbreite erreicht, so „hebt sich in vielen Fällen mit einem Male eine quer oder schräg zweiklappig aufgerissene zarte Membran von der Oberfläche ab, und aus dieser gleitet die zart umschriebene Zelle hervor.“ (de Bary.) Der Bacillus wächst auf den gewöhnlichen Nährböden, am besten bei 20°, aber auch bei Brüttemperatur. Der Bacillus hat ausgesprochenes Sauerstoffbedürfniss. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf der Agaroberfläche entstehen graue, schleimige Ueberzüge. Auf Kartoffeln bilden sich dicke, gelblich- bis grauweisse Beläge.

5. Die Proteusarten Hauser's. In faulenden Substanzen hat Hauser (1885) drei Arten von Fäulnissbakterien häufiger angetroffen, welche er Proteus vulgaris, Proteus mirabilis und Proteus Zenkeri nennt. Diese Arten sind nach Hauser pleomorph. Sie sind Fäulnisserreger, erzeugen bei ihrem Wachsthum Stoffwechselproducte (Alkaloide), welche auf Thiere giftig wirken (cf. oben p. 157).

a. Die am häufigsten vorkommende Art ist Proteus vulgaris. Dieser Organismus bildet Stäbchen von 0,6 μ Breite und verschiedener Länge, welche lebhaft eigenbeweglich sind, auf den gewöhnlichen Nährböden, am besten bei 20—24° C., wachsen. Jedes Stäbchen trägt (nach Messea) äusserst zahlreiche (60 bis 100) seitlich stehende Geisseln, welche in gelungenen, nach Loeffler gefärbten[1]) Präparaten dem Bacillus das Aussehen eines Federbartes verleihen. Die Gelatine wird schnell verflüssigt. Auf der Gelatineplatte (6 proc. Gelatine) setzt sich der verflüssigte Bezirk in eigenthümlichen, die wunderlichsten verschlungenen Figuren („Schwärmende Inseln") bildenden Ausläufern in die solide Gelatine hinein fort („Bacillus figurans"). Auf der Agaroberfläche kommt es zur Bildung von grauen, feuchtglänzenden Ueberzügen. Auf Kartoffeln bildet der Bacillus schmierige Beläge. Sporenbildung ist nicht vorhanden.

b. Der Proteus mirabilis bildet Stäbchen von 0,6 μ Breite und wechselnder Länge. Die Culturen auf der Gelatineplatte bilden in der Tiefe des Nährbodens wunderbar gestaltete, gewundene Zoogloeamassen; auf der Oberfläche bilden sich „schwärmende Inseln" wie bei Proteus vulgaris. Die Gelatine wird sehr langsam verflüssigt.

c. Der Proteus Zenkeri bildet Bacillen von 0,4 μ Breite und im Mittel 1,6 μ Länge. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Es bilden sich „schwärmende Inseln" wie bei Proteus mirabilis.

6. Bacterium termo. Unter dieser Bezeichnung wurden früher, als man noch nicht verstand mit Reinculturen zu arbeiten, Bakterien verstanden, die man in faulenden Flüssigkeiten antraf, und die man als die Erreger der Fäulniss ansah. Bacterium termo waren kurze, meist zu zweien auftretende, lebhaft bewegliche Stäbchen. Heutzutage kann die Bezeichnung „Bac-

---

[1]) Nach Messea bedarf es zur Färbung dieser Geisseln eines Zusatzes von zwei Tropfen Säure zu 16 ccm Beize (cf. oben p. 66).

terium termo" nur als Sammelname für ein inconstantes Gemenge von Arten angesehen werden; und die Bezeichnung ist deshalb überhaupt fallen zu lassen (Flügge).

7. Der Bacillus acidi lactici Hueppe (Bacillus der Milchsäuregährung, Milchsäurebacillus) bildet aus dem Milchzucker der Milch Milchsäure und Kohlensäure. Dabei tritt eine Gerinnung des Caseïns ein. Er findet sich in saurer Milch.

Der Milchsäurebacillus bildet meist zu zweien verbundene Kurzstäbchen ohne Eigenbewegung, welche in Gegenwart von Sauerstoff wachsen, aber auch einen gewissen Sauerstoffmangel ertragen. Unter 10° findet keine Entwickelung statt. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 35 und 42° C. Der Bacillus bildet endogene Sporen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Es bilden sich langsam wachsende, porcellanartig glänzende Colonien in der Gelatine. Auf Kartoffeln bilden sich gelbbräunliche, feuchte Ueberzüge.

Der Milchsäurebacillus Hueppe ist nicht die einzige Bakterienart, welche den Milchzucker in Milchsäure umwandelt, aber die häufigste.

8. Die Bakterien der Buttersäuregährung. Es giebt mehrere Bakterienarten, welche die Eigenschaft haben, aus Kohlehydraten Buttersäure zu bilden. Genauer studirt sind zwei wesentlich von einander verschiedene Arten: der streng anaërobe Bacillus butyricus Prazmowsky und der aërobe Bacillus butyricus Hueppe.

a. Der Bacillus butyricus Prazmowsky (Clostridium butyricum, Bacillus amylobacter) findet sich in ausserordentlicher Verbreitung in der Natur. Er stellt grosse Stäbchen von etwa 1 μ Breite und wechselnder Länge dar, die öfters Ketten bilden. Der Bacillus ist lebhaft eigenbeweglich. Er bildet Sporen, die meist mittelständig sind, und während deren Bildung das Stäbchen in der Mitte anschwillt, so dass eine Spindelform, eine Clostridiumform (cf. p. 16) entsteht. Die Sporen können aber auch am Ende des Stäbchens auftreten. Die Sporen sind 1 μ breit und 2—2,5 μ lang. Wenn die (frei gewordene) Spore auskeimt, so geschieht das so, dass aus einem endständigen Riss der Sporenmembran das Keimstäbchen hervortritt; die Sporenmembran sitzt dann weiterhin dem jungen Bacillus wie eine Kappe auf. Der Bacillus wächst nur bei Sauerstoffabschluss. In Lösungen von Stärke, Dextrin, Zucker, milchsauren Salzen bildet er grosse Mengen von Buttersäure unter gleichzeitiger Entwickelung von Kohlensäure

und Wasserstoff. Dieselbe Gährthätigkeit entfaltet der Bacillus in alter Milch, deren Milchzucker aber zunächst durch Milchsäuregährung in Milchsäure übergeführt sein muss. Auch geronnenes Caseïn vermag der Bacillus langsam zu lösen. Unter gewissen Umständen, namentlich bei der Cultivirung des Bacillus auf stärkehaltigem Nährboden, zeigt das Protoplasma des Bacillus Granulose-Gehalt. Mit wässeriger Jodlösung färbt sich das Protoplasma hier ganz oder theilweise tiefindigoblau bis schwarzviolett. Davon hat der Bacillus den Namen „Bac. amylobacter“ erhalten. — Nach Gruber verbergen sich unter der Bezeichnung Clostridium butyricum mehrere Arten.

b. Der Bacillus butyricus Hueppe wurde von Hueppe aus Milch isolirt. Derselbe bildet grosse, schlanke, häufig zu zweien verbundene Stäbchen, welche in Gegenwart von Sauerstoff auf den gemeinen Nährböden (bei Zimmer- sowohl wie bei Brüttemperatur) gedeihen und mittelständige Sporen bilden. Die Gelatine wird schnell verflüssigt. Auf der Agaroberfläche bildet der Bacillus feuchte, gelbliche Ueberzüge. In sterilisirter Milch veranlasst der Bacillus (am besten bei Brüttemperatur) zunächst labähnliche Gerinnung des Caseïns, ohne dass dabei die amphotere Reaction der Milch geändert wird. Dann wird das ausgefällte Caseïn wieder gelöst und in Pepton und einige weitere Spaltungsproducte übergeführt; unter diesen tritt Ammoniak auf. Zugleich macht sich ein bitterer Geschmack bemerkbar. Aus milchsauren Salzen bildet der Bacillus Buttersäure.

9. Der Bacillus aceticus (Bacterium aceticum, Mycoderma aceti, Essigpilz) hat das Vermögen, den Alcohol gegohrener Getränke (in Gegenwart von freiem Sauerstoff) in Essigsäure zu verwandeln. Er bildet auf derartigen Flüssigkeiten, am besten bei etwa 33° C., oberflächliche Kahmhäute, während die Flüssigkeit selbst trübe und stark sauer wird. Die Bacillen stellen Kurzstäbchen dar, die gewöhnlich zu langen Ketten verbunden sind. Mit den modernen Culturmethoden ist der Organismus noch nicht genauer untersucht.

10. Die Milchkothbakterien Escherich's. Im normalen Darme des Säuglings hat Escherich (1885) zwei Bakterienarten constant vorgefunden (obligate Milchkothbakterien). Die erste ist das Bacterium lactis aërogenes. Dasselbe bewohnt die oberen Darmpartien; weiter nach unten im Darme wird diese Art immer seltener und macht der zweiten Art Platz, dem Bacterium coli commune.

a. Das Bacterium lactis aërogenes ist ein plumpes Kurzstäbchen von 0,5 μ Breite, welches Eigenbewegung nicht besitzt. In Zuckerlösungen scheinen sich endständige Sporen zu bilden. Das Culturverhalten ist gleich dem des Hueppe'schen Milchsäurebacillus (p. 247). Auf Kartoffeln bilden sich weissgelbliche, rahmartig zerfliessende, von Gasblasen durchsetzte Colonien. Der Milchzucker wird durch das genannte Bacterium vergohren zu Milchsäure und besonders Essigsäure (A. Baginsky). Dabei bildet sich Kohlensäure, Wasserstoff und Methan.

b. Das Bacterium coli commune bildet schlanke, 0,3—0,4 μ breite Stäbchen von geringer Eigenbeweglichkeit, die bald einzeln, bald paarweise auftreten. Dieselben wachsen wie die vorige Art bei Sauerstoffanwesenheit auf den gemeinen Nährböden. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Colonien haben die Tendenz, sich oberflächlich als dünnes Häutchen auf dem Nährboden auszubreiten. Auf Kartoffeln bilden sich saftige Ausbreitungen von mais- bis erbsengelber Farbe. Sporenbildung existirt nicht. Nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.) lassen sich die Stäbchen nicht färben. Milch wird sehr langsam unter Säurebildung zur Gerinnung gebracht; auf Traubenzuckerlösungen zeigen die Stäbchen deutliches Gährvermögen.

11. Die Bakterien der ammoniakalischen Harnstoffgährung. Eine Anzahl Bakterienarten haben die Fähigkeit, Harnstoff in Ammoniumcarbonat umzuwandeln. Hierher gehören unter Anderem der Micrococcus ureae Leube, der Micrococcus ureae liquefaciens Flügge, der Bacillus ureae Leube.

a. Der Micrococcus ureae Leube ist ein Coccus von 0,8—1,0 μ Durchmesser, der einzeln, zu zweien, in Tetraden oder Ketten auftritt, auf der Gelatine ohne Verflüssigung oberflächlich wächst.

b. Der Micrococcus ureae liquefaciens Flügge hat 1,25—2 μ Durchmesser, kommt vereinzelt oder in kleinen Ketten oder unregelmässigen Gruppen vor und verflüssigt die Gelatine langsam.

c. Der Bacillus ureae Leube bildet plumpe Stäbchen von 1 μ Dicke mit abgerundeten Enden, welche auf der Gelatine oberflächlich wachsen, ohne dieselbe zu verflüssigen.

12. Um die Erforschung der in der Mundhöhle des Menschen vorkommenden Bakterien hat sich besonders W. D. Miller (cf. p. 150, Anm. 1) verdient gemacht. Stets, in jeder Mundhöhle, zu finden sind

folgende Bakterien („eigentliche Mundpilze"): Leptothrix buccalis innominata, Bacillus buccalis maximus, Leptothrix buccalis maxima, Jodococcus vaginatus, Spirillum sputigenum, Spirochaete dentium (denticola). Sämmtlich haben sie sich bisher den Versuchen, sie künstlich zu züchten, widersetzt.

a. Leptothrix buccalis innominata bildet 0,5—0,8 μ breite, vielfach gewundene und verschlungene, bewegungslose Fäden, welche sich mit Jodjodkaliumlösung gelb färben.

b. Bacillus buccalis maximus erscheint in Büscheln parallel laufender, 1—1,3 μ breiter Fäden, welche sich mit Jodjodkaliumlösung blauviolett färben (cf. p. 9: Granulosereaction).

c. Leptothrix buccalis maxima hat in der Form und Anordnung die grösste Aehnlichkeit mit dem Bacillus buccalis maximus, färbt sich aber mit Jodlösung gelb.

d. Jodococcus vaginatus kommt in Ketten von 4—10 Zellen vor, welche in einer Scheide stecken. Die Verbände haben eine Dicke von 0,75 μ. Die eigentlichen Zellen färben sich mit Jodlösung blauviolett, die Scheide nimmt dabei schwach gelbe Färbung an.

e. Spirillum sputigenum bildet kommaförmige, lebhaft bewegliche Stäbchen, welche auch zu zweien zusammengelagert sind und dann S-Formen bilden.

f. Spirochaete dentium (Sp. denticola, Zahnspirochaete) findet sich, wie die vorige Art, unter dem Zahnfleischrande; sie bildet 8 bis 25 μ lange Schrauben (cf. Taf. I, Fig. 1; hier sieht man eine Anzahl solcher Schrauben). Sie hat zugespitzte Enden; dies hat sie mit der Recurrensspirochaete (p. 232) gemein, und beide unterscheiden sich dadurch von anderen Spirillen (Koch).

In dem Zahnbelage eines an Pyorrhoea alveolaris leidenden Hundes fand Miller einen Spaltpilz von riesigen Dimensionen: Leptothrix gigantea. Derselbe liess sich, wie die bisher genannten Arten, künstlich nicht züchten.

Die künstliche Reinzüchtung gelang Miller unter Anderem bei folgenden Mundpilzen: Jodococcus magnus (grosse Coccen, die sich mit Jodjodkaliumlösung blauviolett färben), Jodococcus parvus (kleine Coccen, die ebenfalls die Jodreaction geben), ferner bei einem Coccus, der mit Jod schön rosaroth wird.

Ausser den genannten giebt es eine grosse Anzahl von im Munde gelegentlich zu findenden Arten, deren Reinzüchtung gelungen ist,

die aber mit wenigen Ausnahmen noch nicht ausführlicher studirt worden sind.

Ueber die Zahncaries siehe oben (p. 150, Anm. 1).

13. Der Bacillus der blauen Milch (Bacillus cyanogenus, Bacterium syncyanum) ist die Ursache des häufiger zu beobachtenden spontanen Blauwerdens der Milch. Zuerst von Fuchs wurde die Ursache dieses Blauwerdens Bakterien zugeschrieben; später wurde der veranlassende Bacillus besonders von Neelsen und von Hueppe, ferner von Scholl und von Heim genauer studirt.

Der Bacillus cyanogenus ist ein kleines, etwa 0,4 μ dickes, schlankes Stäbchen, welches häufig zu zweien gruppirt auftritt und lebhafte Eigenbewegung besitzt. Die letztere wird vermittelt durch zahlreiche Geisseln, die wie beim Typhusbacillus (cf. p. 196) den Seitenwandungen des Individuums angeheftet sind. Die mikroskopische Darstellung dieser Geisselfäden ist oben (cf. p. 66, Anm. 1) beschrieben. Die Frage, ob der Bacillus Sporen bildet, war von Hueppe in positivem Sinne entschieden worden; nach neueren Untersuchungen jedoch (Scholl) muss die Frage als eine noch offene angesehen werden. Der Bacillus gedeiht auf den gewöhnlichen Nährböden, am besten bei Zimmertemperatur, und bildet, am besten auf leicht sauren Nährböden, ein schönes blaues Pigment. Bei Brüttemperatur wächst der Bacillus langsamer als bei Zimmertemperatur; hier bleibt die Pigmentbildung aus (Heim). Auf der Gelatine ist das Wachsthum vorzugsweise ein oberflächliches (der Bacillus ist aërob). Es bildet sich in der Stichcultur ein schmutzig-weissgrauer Belag auf der Oberfläche, während die Gelatine selbst, besonders um die oberen Theile des Impfstiches herum, eine mehr und mehr dunkel werdende, bläulich-violette bis braune Färbung annimmt. Je alkalischer die Gelatine ist, desto brauner wird die Färbung. In sterile Milch eingeimpft bewirkt der Bacillus weder Gerinnung noch Säuerung; sondern die Milch wird schwach alkalisch und färbt sich zugleich schiefergrau. Durch Säurezusatz geht dieses Grau in intensives Blau über. Impft man den Bacillus in rohe Milch, so kommt a priori (in Folge der durch die Milchsäurebakterien hervorgebrachten Säuerung der Milch) Blaufärbung zu Stande. Auf der Agaroberfläche bildet der Bacillus einen schmutzig-grauen Belag; der Nährboden selbst färbt sich in ähnlicher Weise, wie dies die Gelatine thut. Auf Kartoffeln bildet sich ein dicker, schmieriger Belag, in dessen Umgebung sich die Kartoffel schwarzblau färbt.

14. Der Bacillus violaceus (violetter Bacillus aus Wasser) wird häufig in Fluss- und Leitungswasser (Spree, Themse) angetroffen.

Er ist ein kleines, schlankes, lebhaft eigenbewegliches Stäbchen, welches einzeln, aber auch zu längeren Fäden verbunden, vorkommt. Er bildet mittelständige Sporen. Der Bacillus gedeiht auf den gewöhnlichen Nährböden und bildet, am schönsten auf Agar und auf Kartoffeln, einen intensiv dunkelschwarzvioletten Farbstoff. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf Kartoffeln ist das Wachsthum ein langsames.

15. Der Bacillus Indicus (Bacillus ruber Indicus) wurde von R. Koch in Indien aus dem Mageninhalt eines Affen isolirt.

Er stellt einen sehr kleinen, eigenbeweglichen Bacillus dar, welcher bei Sauerstoffanwesenheit auf den gewöhnlichen Nährböden wächst und dabei einen ziegelrothen Farbstoff producirt. Die Gelatine wird energisch verflüssigt. Das Temperaturoptimum liegt bei etwa 35 ° C. Auf Agar sieht die Cultur zunächst weiss aus, färbt sich aber bald roth. Auf Kartoffeln bilden sich ziegelrothe Auflagerungen, die, mit Ammoniak betupft, dunkelroth, nach Essigsäurezusatz aber wieder ziegelroth werden (Eisenberg). Der Bacillus bildet giftige Stoffwechselproducte.

16. Der Bacillus prodigiosus (Micrococcus prodigiosus, Monas prodigiosa Ehrenberg) findet sich selten in der Luft und ist schon frühzeitig aufgefallen durch die intensiv blutrothe Färbung, welche er manchen Cultursubstraten verleiht.

Der Bacillus stellt ein sehr kleines, unbewegliches Kurzstäbchen dar (siehe Taf. II, Fig. 8), welches bei Zimmertemperatur sowohl wie bei Brüttemperatur auf den gewöhnlichen Nährböden wächst und bei Zimmertemperatur einen mehr oder weniger intensiv rothen Farbstoff producirt. Bei Brüttemperatur wächst der Bacillus farblos, in weissen Culturen (Schottelius). Hand in Hand mit der Farbstoffproduction geht die Production von Trimethylamin (Geruch nach Heringslake; cf. p. 23). Am schönsten wird der Farbstoff auf Kartoffeln gebildet; hier ist er tiefblutroth; auf Agar spielt der Farbstoff mehr in das Carmoisinroth hinüber. Der auf Kartoffeln gebildete blutrothe Farbstoff wird, mit Essigsäure betupft, heller, ziegelroth; nach Ammoniakzusatz bildet sich wieder das ursprüngliche Dunkelroth (Eisenberg). Gelatine wird durch den Bacillus prodigiosus energisch verflüssigt.

17. Der Micrococcus agilis. Im Jahre 1889 wurde von Ali-Cohen aus Trinkwasser ein Micrococcus reingezüchtet, dem — im Gegensatz zu allen bekannten Coccenarten — die Eigenschaft der Eigenbeweglichkeit („agilis") zukommt (cf. p. 13).

Der Micrococcus agilis kommt fast immer als Diplococcus, seltener in kurzen Kettenverbänden, bisweilen in Tetradenform zur Beobachtung. Der Durchmesser des Coccus beträgt 1 μ. Der Coccus hat lebhafte Eigenbewegung, welche vermittelt wird durch sehr lange, ausserordentlich feine Geisseln, die gewöhnlich in der Einzahl vorhanden sind, aber auch zu mehreren an einem Individuum angebracht vorkommen (Loeffler). Die mikroskopische Darstellung dieser Geisseln ist oben (p. 65 ff.) beschrieben. Taf. III, Fig. 18, zeigt (im linken unteren Quadranten des Bildes) einen Diplococcus mit Geisselfaden. Der Micrococcus agilis lässt sich auf den gewöhnlichen Nährböden leicht züchten; er wächst bei Zimmertemperatur, nicht aber bei Brüttemperatur. Auf allen Substraten (Gelatine, Agar, Kartoffel etc.) wird ein rosenrothes Pigment gebildet. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Nach der Gram'schen Methode (p. 87 ff.) färbt sich der Coccus.

18. Das Spirillum rubrum Esmarch wurde von E. v. Esmarch aufgefunden in dem Cadaver einer an Mäusesepticaemie verendeten Maus, der zur Gewinnung von Fäulnissbakterien mit Leitungswasser hingestellt worden war und 3 Monate später vertrocknet gefunden wurde. Das Spirillum bildet einen schönen rothen Farbstoff, aber nur bei Sauerstoffabwesenheit.

Das Spirillum wächst bei Zimmer- und bei Brüttemperatur, am besten bei 37 ° C. Es lässt sich auf den gewöhnlichen Nährböden züchten. In der Gelatine kommt es bei Zimmertemperatur nur sehr langsam zur Entwickelung. In der Stichcultur bildet sich nur im Verlauf des Impfstiches, nicht an der Oberfläche, rother Farbstoff (siehe oben). Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf festen Nährböden bilden sich nur kurze (3—4 Windungen umfassende), aber lebhaft bewegliche Spirillen; Loeffler hat an ihren Enden Geisselbüschel nachgewiesen, deren mikroskopische Darstellung oben (p. 66, Anm. 1) angegeben wurde. In flüssigen Nährböden kommt es zur Ausbildung sehr langer (30—40 und mehr Windungen umfassender) unbeweglicher Schrauben. Bezüglich etwaiger Sporenbildung ist Sicheres noch nicht bekannt. Das Spirillum rubrum ist das erste wirkliche Spirillum, dessen künstliche Reinzüchtung gelungen ist.

19. Chromogene Sarcinen. In der Luft kommen ganz gewöhnlich Sarcinekeime vor, die sich gelegentlich auf unseren Nährböden, Gelatineplatten, Kartoffeln etc., niederlassen und dort zur Entstehung von Colonien Veranlassung geben, die durch ihre Färbung auffallen. Die häufigsten sind die orange Sarcine, die gelbe Sarcine, die weisse Sarcine.

Alle diese Arten sind aërob, wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden. Die orange Sarcine (Sarcina aurantiaca) verflüssigt die Gelatine schnell; die gelbe Sarcine (Sarcina lutea) verflüssigt sie ausserordentlich langsam, die weisse Sarcine verhält sich wie die gelbe. Auf Taf. III, Fig. 14, ist eine „gelbgrüne“ Sarcine dargestellt, welche ich aus Luft cultivirte, und die mit der „gelben“ vielleicht identisch ist.

20. Im Wasser kommen Bakterienarten vor, welche, in Gelatine gezüchtet, derselben eine prachtvolle grüne fluorescirende Färbung verleihen. C. Fraenkel beschreibt deren zwei.

Die eine ist ein kleiner, feiner Bacillus ohne Eigenbewegung. Derselbe wächst bei Zimmertemperatur auf der Gelatine, und zwar fast ausschliesslich oberflächlich, in Gestalt einer zarten, grauen, blattartig gezeichneten Haut. Die darunter liegende Gelatine fluorescirt prachtvoll hellgrün („Bacillus fluorescens“). Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Die zweite Art ist der sogenannte Bacillus erythrosporus. Derselbe ist viel grösser als der vorhergenannte, ist eigenbeweglich und bildet grosse mittelständige Sporen, welche einen eigenthümlichen rothen Glanz („erythrosporus“) besitzen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Das Wachsthum ist nicht auf die Oberfläche beschränkt wie bei dem vorigen Bacillus. Die Gelatine fluorescirt ebenso schön wie bei dem vorigen Bacillus.

21. Der Bacillus fluorescens liquefaciens (verflüssigender fluorescirender Bacillus) findet sich häufig in faulenden Flüssigkeiten. Er bildet kurze, eigenbewegliche Stäbchen, zu zweien verbunden. Die Gelatine wird verflüssigt und zeigt, namentlich in den noch nicht verflüssigten Theilen, grünlich-gelbe Fluorescenz. Auf Kartoffeln bilden sich bräunliche Beläge. (Flügge.)

22. Eine Reihe von Bakterienarten hat die Eigenschaft, in ihren Culturen im Dunkeln zu leuchten. Hier seien drei solche Arten

aufgeführt, die von B. Fischer entdeckt resp. genauer studirt worden sind.

a. Bacillus phosphorescens. Derselbe wurde von Fischer bei der Insel S. Croix im Meerwasser gefunden. Er stellt kleine, dicke, eigenbewegliche Stäbchen dar, welche, am besten zwischen 20 und 30° C., auf den Nährböden wachsen und die Gelatine verflüssigen; Sporen werden nicht gebildet. Auf Kartoffeln ist das Wachsthum ein geringes. Unter 10° C. findet überhaupt kein Wachsthum statt. Die Culturen leuchten (am besten bei Temperaturen zwischen 25 und 30° C.) im Dunkeln mit mildem, weissem, einen bläulichen Schimmer zeigenden Lichte, aber nur bei Sauerstoffanwesenheit. Zusatz geringer Mengen von Chlormagnesium oder Magnesiumsulfat zu leuchtenden Culturen verstärkt das Leuchten. Den günstigsten Nährboden für den Bacillus bilden gekochte Fische, die prachtvoll leuchtend werden.

b. Bacterium phosphorescens. Dasselbe stammt von todten Fischen aus der Ostsee, die bei einfachem Liegen (im Keller) häufig von selbst leuchtend werden. Es bildet kurze, plumpe, oft zu zweien zusammenhängende, aërobe Stäbchen ohne Eigenbewegung, welche auf der Gelatine ohne Verflüssigung, hauptsächlich oberflächlich, auf Kartoffeln nicht wachsen. Das Temperaturoptimum für das Leuchten liegt erheblich niedriger als bei dem vorigen Bacillus. Das Leuchten ist etwas stärker als bei dem vorigen Bacillus und zeigt einen grünlichen Schimmer.

c. Der einheimische Leuchtbacillus, von Fischer im Wasser des Kieler Hafens gefunden. Derselbe stellt kurze, dicke, lebhaft eigenbewegliche, aërobe Stäbchen dar, die auf der Gelatine am besten bei 3 % Kochsalzzusatz wachsen, auf Kartoffeln nicht gedeihen. Die Gelatine wird verflüssigt. Das Wachsthum und Leuchten findet schon bei 5—10° C., ebenso aber bis gegen 25° C. hin, statt. Die Farbe des Lichtes ist keine grünliche, sondern eine bläulich-weisse.

23. Das Spirillum concentricum Kitasato. Dasselbe wurde von dem genannten Autor aus faulendem Rinderblut gezüchtet. Es wächst auf Gelatine bei Zimmertemperatur, ohne die Gelatine zu verflüssigen, und bildet auf der Platte eigenthümliche, aus concentrischen Ringen zusammengesetzte Colonien. In der Stichcultur findet hauptsächlich ein oberflächliches Wachsthum statt. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 20 und 23° C. Auf Kartoffeln gedeiht der Organismus nicht. Mikro-

skopisch stellt das Spirillum kurze, 2—3 Windungen umfassende, lebhaft bewegliche Schrauben dar. In Bouillon kommt es zur Bildung von langen (5—20 Windungen zeigenden) Schrauben. Die Dicke der Organismen ist etwas grösser als die der Cholerabacillen. Sporenbildung wurde nicht constatirt. Das Spirillum trägt an den Enden Geisselbüschel (Loeffler), deren mikroskopische Darstellung oben (p. 66, Anm. 1) angegeben ist.

24. Einige in ihrer Form auffällige, häufiger vorkommende Bakterienarten sollen in Folgendem noch aufgeführt werden, obgleich man dieselben in Reinculturen noch nicht studirt hat:

a. Bacillus tremulus Koch. Derselbe findet sich oft an der Oberfläche von faulenden Pflanzenaufgüssen, und zwar in solcher Menge, dass er eine ziemlich dicke, schleimige Haut auf denselben bildet. Er hat eine eigenthümliche zitternd rotirende Bewegung. Beide Enden des Bacillus tragen eine Geissel, welche eine feine, regelmässig gestaltete Wellenlinie bildet. Er bildet Sporen, welche dicker werden als der Bacillenkörper.

b. Spirillum Undula. Es kommt sehr häufig in allen möglichen faulenden Flüssigkeiten vor, bildet grosse, mit Geisselbüscheln an den Enden versehene Spirillen (siehe Taf. III, Fig. 15 und 16).

c. Spirochaete plicatilis. Von Koch häufig in Rinnsteinen, im Stadtgraben von Wollstein, im Schlamm am Rande des Wollsteiner Sees während des ganzen Sommers gefunden. Diese Art ist durch eine zweifache Wellenlinie, d. h. durch grössere primäre und kleinere secundäre Windungen, ausgezeichnet. Sie bewegt sich ausserordentlich schnell.

Anhang.

Ausser den saprophytischen Bakterien haben auch manche saprophytische Schimmelpilze und auch manche Hefen für uns ein Interesse, weil sie sich gern als ungebetene Gäste auf unseren Bakterienculturen einzufinden pflegen.

Unter den Schimmelpilzen sind es namentlich manche Mucor-, Penicillium-, Aspergillus- und Oidiumarten, welchen wir öfters begegnen. Oben (p. 235) haben wir bereits die für die Gattungen Mucor, Aspergillus und Oidium characteristische Art und Weise der Sporenabschnürung kennen gelernt. Bei Penicillium ist diese wiederum abweichend. Die Fruchthyphen zeigen hier pinselartige Verzweigungen, auf denen die Sporen reihenweise abgeschnürt werden.

Der häufigste aller Schimmel ist das (zugleich die häufigste aller Verunreinigungen unserer Culturen, namentlich der Kartoffelculturen, bildende) Penicillium glaucum (grüner Pinselschimmel). Zunächst als kleines, wenig ausgebreitetes weisses Mycelgeflecht erscheinend nimmt seine Colonie schnell an Flächenausdehnung zu, und sehr bald kommt es in den mittleren Partien derselben zur Fructification (Sporenabschnürung); diese Theile sind durch grüne Farbe ausgezeichnet.

In der Milch wird häufig eine saprophytische Oidiumart („Oidium lactis") angetroffen. Dieser Organismus wächst auf der Gelatine, ohne dieselbe zu verflüssigen. Bei der Fructification bildet er trockene, weisse, oberflächliche Rasen.

Zur mikroskopischen Untersuchung der Schimmelpilze benutzt man zweckmässig das Verfahren, welches wir oben bei Gelegenheit der Besprechung des Favuspilzes (p. 236) angegeben haben.

Von den Hefen oder Sprosspilzen (einzelligen Pilzen, welche sich durch Sprossbildung, die an den vegetativen Zellen auftritt, vermehren [cf. Taf. II, Fig. 7; vergl. auch oben p. 8], die aber unter Umständen auch Sporen [sog. Ascosporen] bilden können) kommen einige Arten sehr häufig in der Luft vor, namentlich die sogenannte Rosa-Hefe, welche auf den gewöhnlichen Nährböden wächst und dabei einen hellrosa Farbstoff producirt. Die Gelatine wird durch diesen Organismus nicht verflüssigt. Ebenso verhalten sich zwei andere (seltenere), ebenfalls in der Luft anzutreffende Hefearten: die schwarze und die weisse Hefe. Sie sind nur durch die Farbe des producirten Pigmentes von der Rosa-Hefe unterschieden.

Register.

(Die Ziffern ohne Bezeichnung bedeuten die Seitenzahlen; der wichtigste Nachweis steht an erster Stelle.)

Vorbemerkung zu den Tafeln.

Die folgenden Photogramme sind der grösseren Mehrzahl nach mikroskopische Vergrösserungen.

Was die starken Vergrösserungen, die Vergrösserungen mit dem Immersionssystem, angeht, so haben die Ermittelungen der letzten Jahre ergeben, dass etwa eine 1000 fache Vergrösserung die noch mit Vortheil zu benutzende Maximalleistung unserer besten Instrumente repräsentirt. Geht man über die 1000 fache Vergrösserung hinaus, so verliert das Bild an Schärfe und lässt keine Details erkennen, die nicht auch schon in dem 1000 fach vergrösserten Bilde vorhanden wären. Die 1000 fache Vergrösserung lässt sich aber nur für solche Präparate anwenden, die eine sehr dünne ebene Schicht repräsentiren; d. h. sie kann bei Bakterienaufnahmen nur für Deckglastrockenpräparate in Anwendung kommen. Die besondere Natur der Schnittpräparate bringt es mit sich, dass man hier mit Vortheil nicht über eine 500 fache Vergrösserung hinausgehen kann.

Ein grosser Vortheil der 1000 fachen Vergrösserung ist der, dass man die wirkliche Grösse der Objecte ohne Weiteres direct mit dem Millimetermassstab feststellen kann. 1 mm auf dem Bilde entspricht natürlich $^1/_{1000}$ mm oder 1 μ in der Wirklichkeit. Ausserdem fallen die relativen Grössenverhältnisse der verschiedenen bei einer und derselben Vergrösserung dargestellten Objecte ohne Weiteres ins Auge.

Die folgenden, bei 1000 facher (Trockenpräparate) und bei 500 facher Vergrösserung (Schnittpräparate) aufgenommenen Photogramme sind mit dem Zeiss'schen 2 mm-Apochromat-System (Apertur 1,40), dem besten System, welches wir heutzutage haben, hergestellt.

Ausser diesen sehr starken Vergrösserungen sind auch (je nach Bedürfniss) schwächere Vergrösserungen benutzt. Fig. 71 auf Taf. XII (240 fach), sowie Fig. 27 und 28 auf Taf. V und Fig. 47 auf Taf. VIII (200 fach) wurden mit Zeiss DD, Fig. 58 auf Taf. X

(100 fach) mit Zeiss BB, Fig. 29 und 30 auf Taf. V (40 fach) mit Zeiss AA, Fig. 21 auf Taf. IV (25 fach) mit Zeiss aa aufgenommen.

Die Vergrösserungen sind übrigens sämmtlich zuverlässig genau (unter Zugrundelegung eines Zeiss'schen Objectmikrometers) angegeben.

Ferner sind eine Reihe von Culturen in natürlicher Grösse dargestellt. Diese Aufnahmen sowohl wie die Fig. 53 und 54 auf Taf. IX ($^1/_3$ der natürlichen Grösse) wurden mit einer gewöhnlichen achromatischen „Landschaftslinse" von c. 17 cm Brennweite hergestellt.

An den meisten Bildern wird man mit schwacher Loupe mehr sehen als mit blossem Auge.

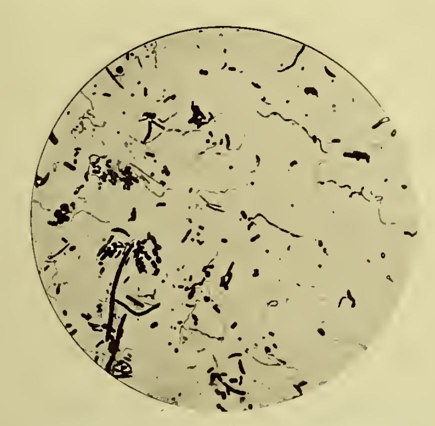
Sämmtliche mikroskopische Aufnahmen wurden bei Petroleumlicht gemacht mit einer einzigen Ausnahme; es ist dies Fig. 34 auf Taf. VI. Bei dieser Aufnahme gestattete die Natur des Objectes (flüssiger Tropfen) die bei Petroleumlicht nöthige längere Exposition nicht, und es kam deshalb hier eine intensivere Lichtquelle (Magnesium) zur Verwendung. Bei allen mikroskopischen Aufnahmen wurde das oben (p. 59, 60) entwickelte Princip der maximalen Beleuchtung zur Anwendung gebracht.

Die Aufnahmen mit der Landschaftslinse wurden bei zerstreutem Tageslichte hergestellt.

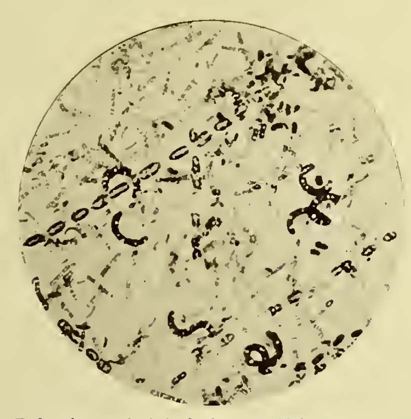
Bezüglich der weiteren technischen Details werde ich an anderer Stelle Gelegenheit nehmen mich zu äussern. Nur so viel sei hier noch hervorgehoben, dass an keinem einzigen Bilde ein Strich oder ein Punkt Retouche angebracht worden ist. Man wird deshalb auch an manchen Bildern einzelne Fleckchen finden, die der Geübte ohne Weiteres als zufällige Verunreinigungen, Plattenfehler etc. erkennt. Diese sind leider nicht immer zu vermeiden. Ich habe sie aber ohne Ausnahme stehen lassen, um meinen Photogrammen keine Spur ihrer Objectivität zu rauben.

Der Verfasser.

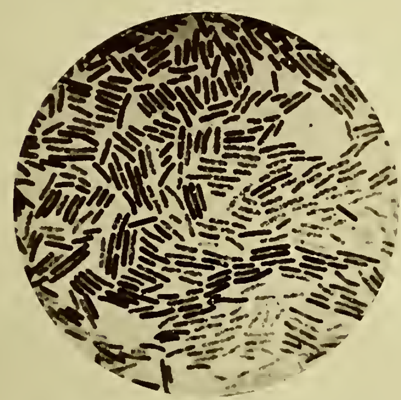
Tafel I.



1. Bakteriengemisch im Zahnbelage. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



2. Bakteriengemisch in faulendem Fleischwasser. Deckglastrockenpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



3. Grosse Bacillen aus Wasser. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Methylenblau. 1000 : 1.



4. Grosse Bacillen („Wurzelbacillus") aus Erde. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.

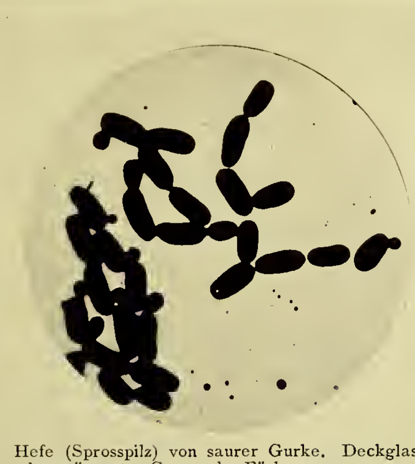


5. Fadenpilz aus Faeces. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.

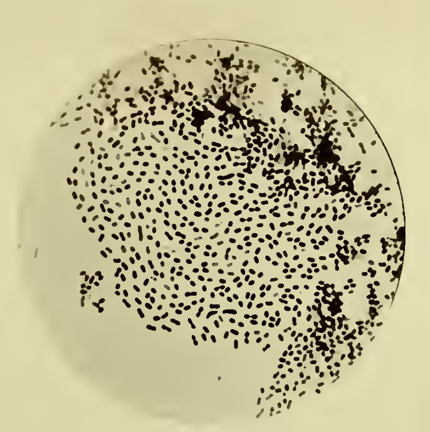


6. Eine andere Stelle des in Fig. 5 dargestellten Präparates. 1000 : 1.

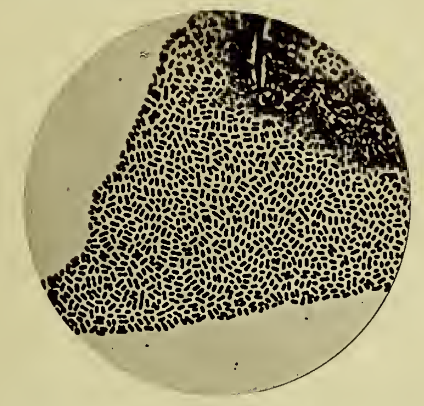
Dr. Carl Günther phot. Berlin 1891. Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



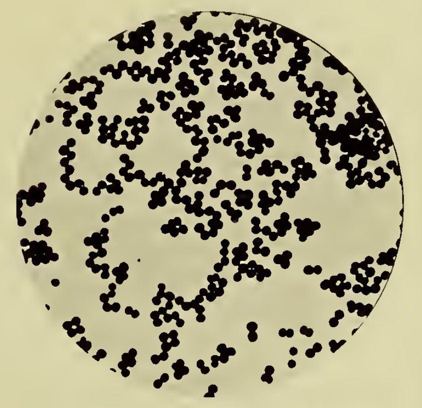
7. Hefe (Sprosspilz) von saurer Gurke. Deckglastrockenpräparat. Gram'sche Färbung. 1000 : 1.



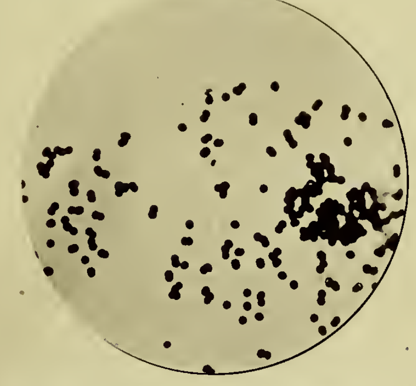
8. Bacillus prodigiosus. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.



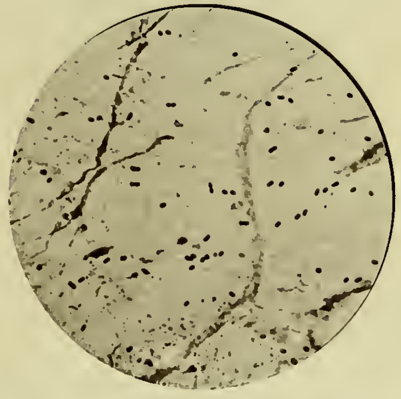
9. Kurze Bacillen (Kurzstäbchen) aus Milch. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.



10. Grosse Mikrococcen aus Luft. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.



11. Grosse Mikrococcen aus Faeces. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.

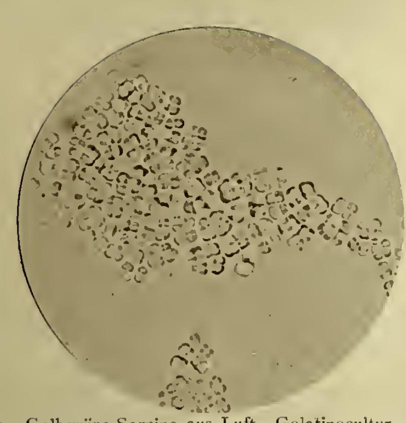


12. Diplococcen in pneumonischem, rostfarbenen Sputum. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1891. Lichtdruck Julius Klinkhardt, Leipzig.



13. Streptococcus pyogenes in phlegmonösem Eiter. Deckglasausstrichpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



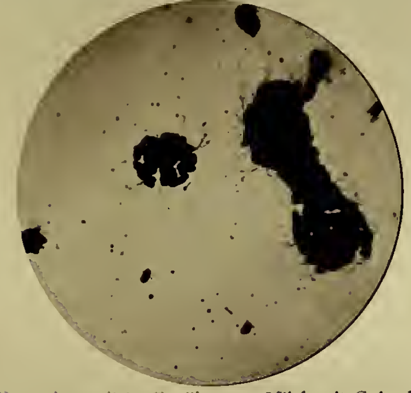
14. Gelbgrüne Sarcine aus Luft. Gelatinecultur. Deckglastrockenpräparat, ungefärbt in Wasser eingeschlossen. 1000 : 1.



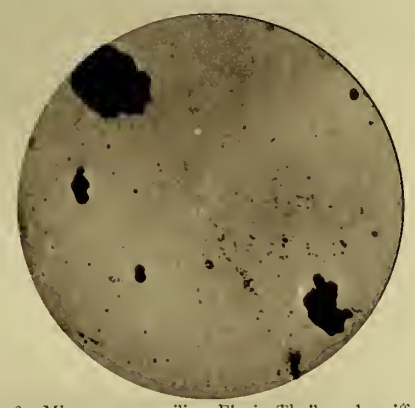
15. Spirillum Undula in faulendem Strohinfus, mit Geisseln. Deckglastrockenpräparat. Gebeizt mit Ferrotannat-Campecheholzlösung. Gefärbt mit alkalischem Anilinfuchsin. 1000 : 1.



16. Spirillum Undula in faulendem Strohinfus, mit Geisselbüscheln. Präparation wie bei Fig. 15. 1000 : 1.



17. Kurze bewegliche Bacillen aus Milch mit Geisseln. Agarreincultur. Deckglastrockenpräparat. Präparation wie bei Fig. 15. 1000 : 1.



18. Micrococcus agilis. Ein in Theilung begriffenes Exemplar mit Geisselfaden. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Gebeizt mit Ferrotannatfuchsin. Gefärbt mit alkalischem Anilinfuchsin. 1000 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1891.

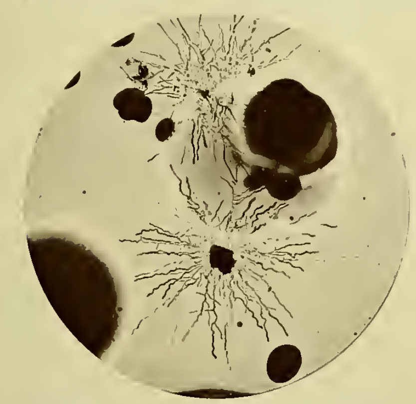
Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



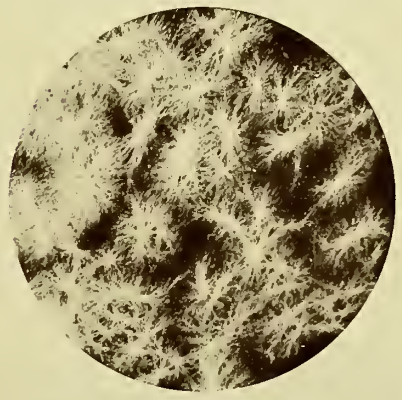
19. Eine Leptothrixart aus cariöser Zahnhöhle mit Sporen. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



20. Cladothrix aus Wasser. Gelatinecultur. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



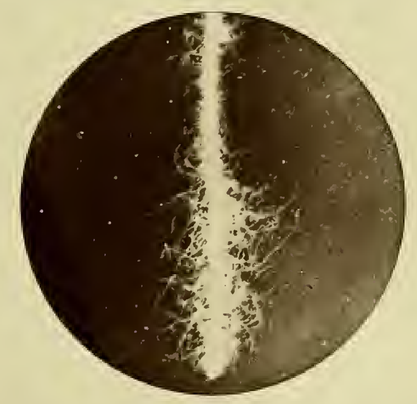
21. Gelatineplattencultur, mit Heustaub angelegt. Nach 2tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 25 : 1.



22. „Wurzelbacillus". Gelatineplattencultur nach 2tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.



23. Gelatine-Rollröhrchen-Cultur nach v. Esmarch. Mit Gartenerde angelegt. Nach 2tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.



24. „Wurzelbacillus". Oberflächen-Strichcultur auf Agar. Nach 2tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1891.

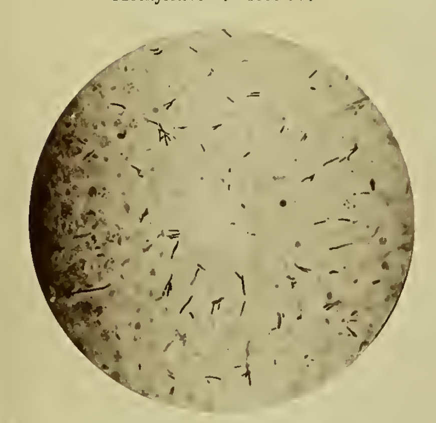
Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



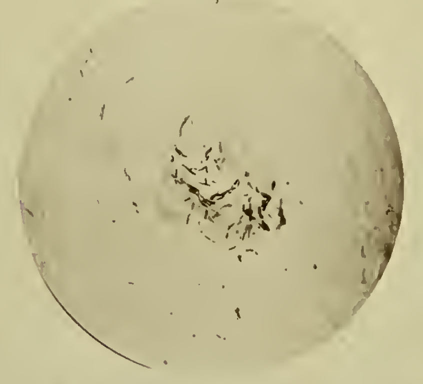
25. Milzbrand. Maus. Milz. Deckglasausstrichpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



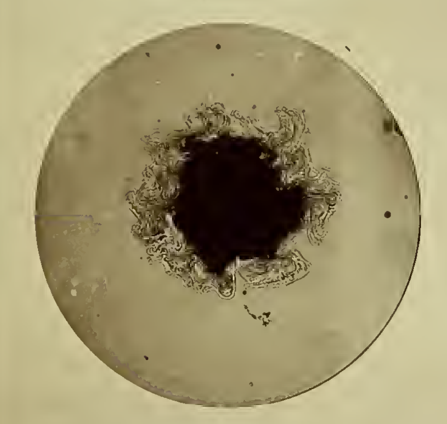
26. Milzbrand. Maus. Milz. Schnitt. Die Kerne mit Picrocarmin, die Bacillen nach Gram-Günther gefärbt. 500 : 1.



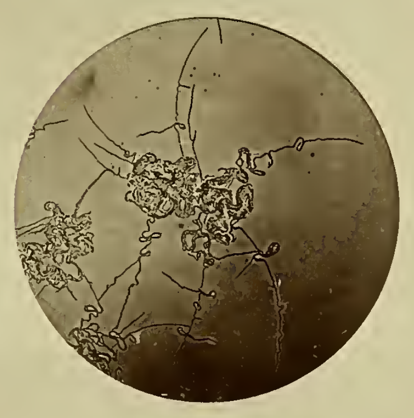
27. Milzbrand. Maus. Leber. Schnitt. Gram-Günther'sche Färbung. 200 : 1.



28. Milzbrand. Meerschweinchen. Niere. Schnitt. Gram-Günther'sche Färbung. 200 : 1.



29. Milzbrandbacillen. Gelatineplattencolonie, 48 Stunden alt. 40 : 1.



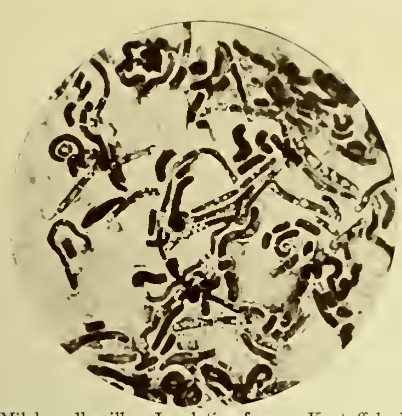
30. Milzbrandbacillen. Gelatineplatten-Oberflächen-Strichcultur, 48 Stunden alt. 40 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1891.

Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



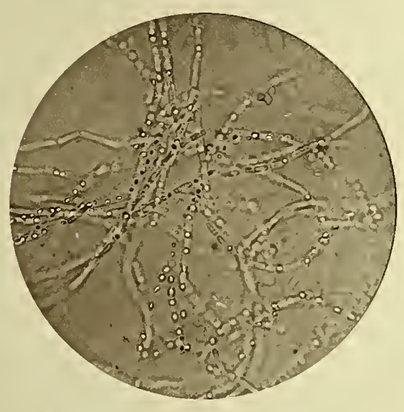
31. Milzbrandbacillen. Klatschpräparat von der in Fig. 30 (Taf. V) dargestellten Plattencultur. Fuchsin. 1000 : 1.



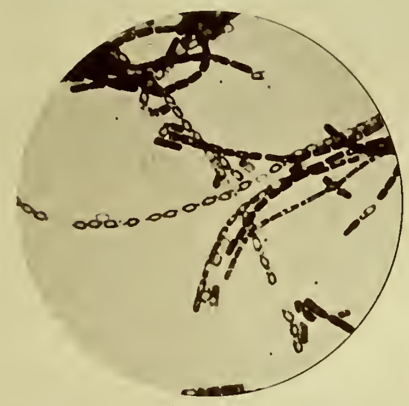
32. Milzbrandbacillen. Involutionsformen. Kartoffelcultur. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



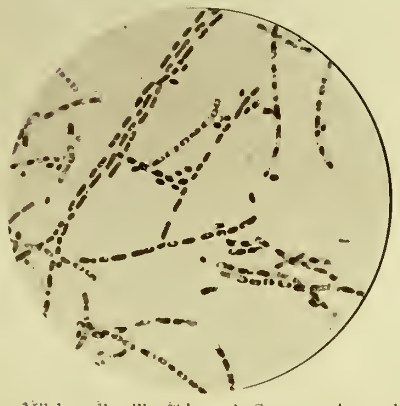
33. Milzbrandbacillen. Gelatinestichcultur nach 7 tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.



34. Milzbrandbacillenfäden mit Sporen. Hängender Gelatinetropfen. 500 : 1.



35. Milzbrandbacillenfäden mit Sporen. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



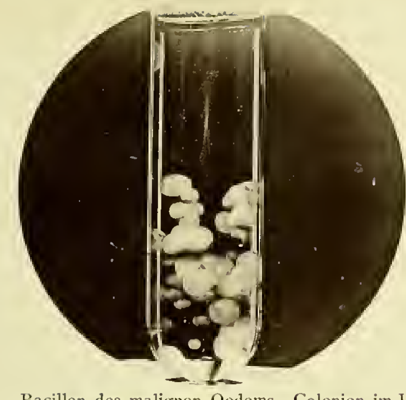
36. Milzbrandbacillenfäden mit Sporen. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Die Sporen mit Fuchsin, die übrige Bacillensubstanz mit Methylenblau gefärbt. 1000 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1891.

Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



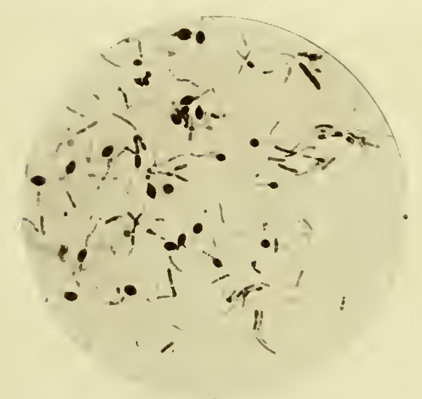
37. Bacillus des malignen Oedems. Meerschweinchen. Oedemflüssigkeit. Deckglasausstrichpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



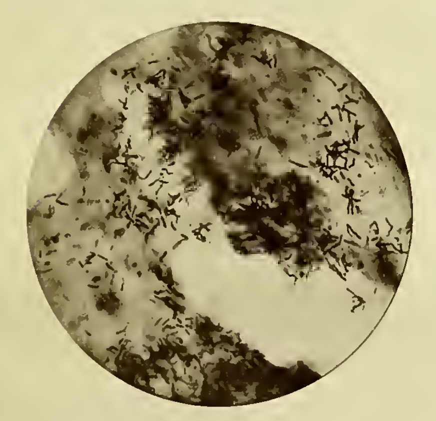
38. Bacillen des malignen Oedems. Colonien im Innern von Traubenzuckergelatine, 44 Stunden nach Vertheilung von Oedemsaft der Maus in dem Nährboden. 1 : 1.



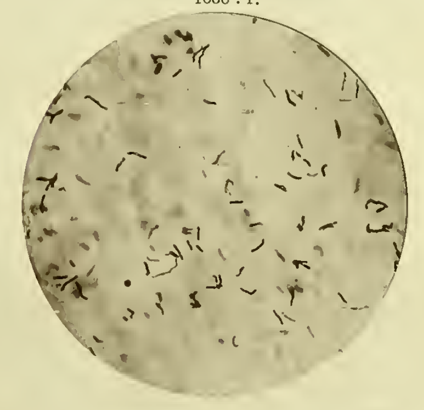
39. Tetanusbacillus mit Sporen. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



40. Bacillen mit endständigen Sporen in faulendem Fleischwasser. Deckglastrockenpräparat. Die Sporen mit Fuchsin, die Bacillen mit Methylenblau gefärbt. 1000 : 1.



41. Tuberkelbacillen. Mensch. Phthisische Lunge. Schnitt. Gentianaviolett. 500 : 1.



42. Tuberkelbacillen. Mensch. Tuberculöse Meningitis. Schnitt durch die Pia. Gentianaviolett. 500 : 1

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1890.

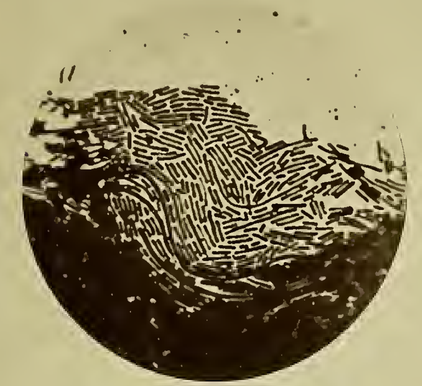
Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



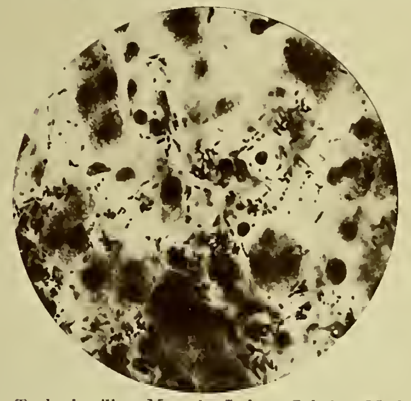
43. Tuberkelbacillen in phthisischem Sputum. Deckglastrockenpräparat. Die Tuberkelbacillen mit Fuchsin, das Uebrige mit Methylenblau gefärbt. 1000 : 1.



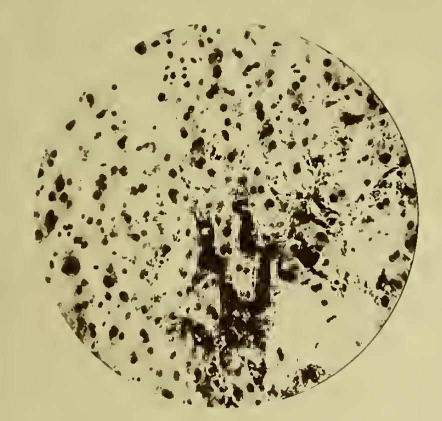
44. Leprabacillen. Mensch. Hautknoten. Deckglasausstrichpräparat. Die Leprabacillen mit Fuchsin, das Uebrige mit Methylenblau gefärbt. 1000 : 1.



45. Typhusbacillen. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000: 1.



46. Typhusbacillen. Mensch. Leber. Schnitt. Methylenblau. Theil eines Bacillenherdes, der in Fig. 47 im Ganzen dargestellt ist. 500 : 1.

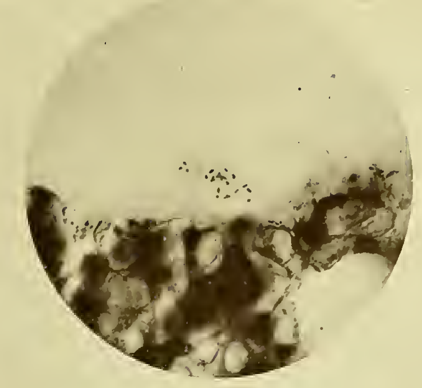


47. Typhusbacillen. Mensch. Leber. Schnitt. Methylenblau. 200 : 1. (Vergl. Fig. 46.)

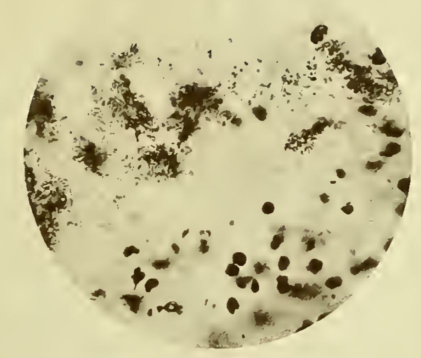


48. Typhusbacillen. Gelatineoberflächenstrichcultur nach 3 tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.

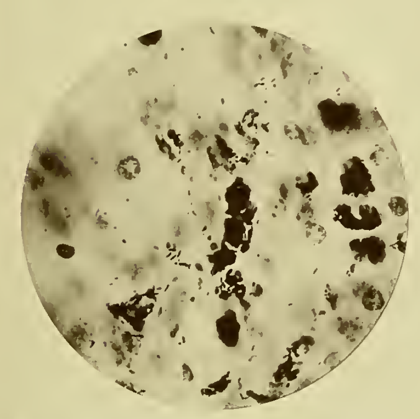
Dr. Carl Günther phot. Berlin 1891. Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



49. Rotzbacillen. Feldmaus. Lunge. Schnitt. Methylenblau. 500 : 1.



50. Diphtheriebacillen. Mensch. Diphtheritische Pseudomembran. Schnitt. Methylenblau. 500 : 1.



51. Mäusesepticaemiebacillen. Maus. Milz. Schnitt. Die Kerne mit Picrocarmin, die Bacillen nach Gram-Günther gefärbt. 500 : 1.



52. Mäusesepticaemiebacillen. Gelatinestichcultur nach 6 tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.



53. An Mäusesepticaemie gestorbene Maus. Charakteristische Todesstellung. $^1/_3$: 1.



54. An Milzbrand gestorbene Maus. $^1/_3$: 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1891.

Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.